

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica



**PATRONES ULTRAESTRUCTURALES DE LOS TUMORES
MIXOIDES DE PARTES BLANDAS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Carmen González Lois

Bajo la dirección del doctor

Miguel Ángel Martínez González

Madrid, 2005

ISBN: 84-669-2811-1

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA Y CIRUGÍA

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA

PATOLÓGICA

**PATRONES ULTRAESTRUCTURALES DE LOS
TUMORES MIXOIDES DE PARTES BLANDAS**

Director: Miguel Ángel Martínez González

Carmen González Lois

Abril de 2005

Hospital Universitario “Doce de Octubre”

Ctra. de Andalucía Km 5,400

Madrid 28041

Madrid, Abril de 2005

Dr. Miguel Angel Martínez González, Médico Adjunto del Hospital Universitario “Doce de Octubre” y Profesor Asociado del Departamento de Anatomía Patológica de la Universidad Complutense de Madrid, certifica que:

Dña. Carmen González Lois ha realizado bajo mi dirección la tesis doctoral cuyo título es:

“Patrones ultraestructurales de tumores mixoides de partes blandas”

Esta tesis representa un trabajo original y contiene observaciones novedosas por lo que resulta válido para su presentación con objeto de la obtención del grado de doctor.

Y para que así conste, firmo el presente certificado en Abril de 2005.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Miguel Ángel Martínez González', written over a horizontal line.

Fdo.: Miguel Ángel Martínez González.

AGRADECIMIENTOS:

La realización de este trabajo hubiera sido imposible sin la inestimable colaboración de un grupo de personas a las que me gustaría agradecerles su ayuda.

En primer lugar, a Miguel Ángel Martínez González, Director de esta tesis, cuya dedicación constante y brillantes aportaciones han sido el impulso de este trabajo. Por su paciencia infinita.

Al Profesor Martínez Tello, Jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Doce de Octubre, por todos estos años de formación y por los medios puestos a nuestra disposición.

A Gustavo Pérez Espejo, Jefe de Servicio del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Doce de Octubre, por su sabiduría que ha hecho más fácil el camino.

A Claudio Ballestín, responsable del Área de inmunohistoquímica del Departamento de Anatomía Patológica de este mismo hospital, por su desinteresada colaboración técnica.

A todos los componentes de la sección de Microscopía Electrónica del Hospital Doce de Octubre: Paco, Ángel, Domingo y M^a Jesús, por el trabajo bien hecho.

A todos los compañeros que en los momentos de flaqueza me dieron ánimos para seguir adelante.

A mi familia y amigos por su constante apoyo.

ÍNDICE

ÍNDICE -----	II
 INTRODUCCIÓN-----	 1
-LOS TUMORES MIXOIDES DE PARTES BLANDAS-----	2
-Cuáles son los tumores mixoides de partes blandas -----	3
-TÉCNICAS DE ESTUDIO -----	5
-Histoquímica-----	5
-Inmunohistoquímica -----	6
-Citogenética-----	7
-Microscopía electrónica -----	7
-Estudio diagnóstico -----	8
-Estudio histogenético -----	9
-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	13
-OBJETIVOS -----	14
 MATERIALES Y MÉTODO-----	 16
-Procedencia de las muestras -----	17
-Criterio de selección de los casos -----	17
-Estudio de los casos-----	21
-Métodos ultraestructurales -----	21
 RESULTADOS-----	 25
-Tumores adipocíticos -----	27
-Lipoma de células fusiformes-----	27
-Liposarcoma mixoide -----	28

-Liposarcoma pleomórfico-----	28
-FIGURAS -----	I
-Tumores fibroblásticos/miofibroblásticos -----	31
-Fascitis nodular -----	31
-Miofibroblastoma de tipo mamario -----	31
-Fibroblastoma desmoplásico -----	32
-Mixofibrosarcoma -----	32
-Sarcoma fibromixioide de bajo grado -----	34
-FIGURAS -----	V
-Tumores de músculo liso-----	36
-Tumores de músculo esquelético -----	38
-FIGURAS -----	X
-Tumores condrales -----	40
-Tumores de diferenciación incierta -----	41
-Mixomas y tumor fibromixioide osificante -----	41
-FIGURAS -----	XIII
-Condrosarcoma mixoide extraesquelético y paracordomas ---	45
-Cordomas -----	46
-FIGURAS -----	XVI
-Tumores neurales -----	48
-FIGURAS -----	XX
-Miscelánea: tumores de tipificación incierta y otros.-----	52
-FIGURAS -----	XXI
-Estudio de gelatina de Wharton -----	53
-FIGURAS -----	XXIII

-TABLAS -----	i
DISCUSIÓN -----	54
-Tumores adipocíticos -----	55
-Lipoma de células fusiformes -----	55
-Definición -----	55
-Consideraciones generales -----	55
-Características clínicas -----	56
-Características macro- y microscópicas -----	56
-Técnicas especiales -----	57
-Características ultraestructurales -----	57
-Liposarcoma mixoide -----	58
-Definición -----	58
-Consideraciones generales -----	58
-Características clínicas -----	59
-Características macro- y microscópicas -----	60
-Técnicas especiales -----	62
-Características ultraestructurales -----	62
-Origen y desarrollo del tejido adiposo -----	64
-El antígeno CD34 -----	67
-Tumores fibroblásticos/miofibroblásticos -----	70
-Fascitis nodular -----	70
-Fibroblastoma desmoplásico -----	70
-Definición -----	70
-Características clínicas -----	70

-Características macro-microscópicas y técnicas especiales	71
-Características ultraestructurales-----	71
-Miofibroblastoma-----	72
-Definición -----	72
-Características clínicas -----	72
-Características macroscópicas y microscópicas-----	72
-Características ultraestructurales-----	73
-Mixofibrosarcoma -----	73
-Definición y consideraciones generales -----	73
-Características clínicas -----	74
-Características macroscópicas-----	74
-Características microscópicas e inmunohistoquímicas-----	75
-Características citogenéticas-----	75
-Características ultraestructurales-----	75
-Sarcoma fibromixioide de bajo grado -----	80
-Definición y consideraciones generales -----	80
-Características macroscópicas y microscópicas-----	80
-Características inmunohistoquímicas-----	81
-Características citogenéticas-----	81
-Características ultraestructurales-----	82
-Miofibroblastos-----	82
-Proliferaciones de miofibroblastos -----	86
-Significado del hallazgo ultraestructural de miofilamentos de tipo músculo liso o actina en distintos tipos celulares-----	89
-Tumores de músculo liso-----	92

-Angioleiomioma -----	92
-Definición y consideraciones generales -----	92
-Características clínicas -----	92
-Características macroscópicas -----	92
-Características microscópicas -----	92
-Características inmunohistoquímicas -----	93
-Características citogenéticas -----	94
-Características ultraestructurales -----	94
-Leiomioma -----	94
-Consideraciones generales -----	94
-Características macroscópicas -----	94
-Características microscópicas -----	95
-Características inmunohistoquímicas -----	95
-Características ultraestructurales -----	95
-Leiomiosarcoma -----	95
-Definición y consideraciones generales -----	95
-Características clínicas -----	96
-Características macroscópicas -----	96
-Características microscópicas -----	96
-Características inmunohistoquímicas -----	97
-Características genéticas -----	98
-Características ultraestructurales -----	99
-Tumores de músculo estriado -----	100
-Rabdomioma -----	100
-Defnición y consideraciones generales -----	100

-Rabdomioma fetal-----	100
-Definición y consideraciones generales -----	100
-Características clínicas-----	101
-Características macroscópicas -----	101
-Características microscópicas-----	101
-Características inmunohistoquímicas -----	102
-Características genéticas-----	102
-Características ultraestructurales -----	103
-Rabdomioma genital-----	103
-Definición y consideraciones generales -----	103
-Características clínicas-----	103
-Características macroscópicas -----	104
-Características microscópicas-----	104
-Características inmunohistoquímicas -----	105
-Técnicas especiales-----	105
-Características ultraestructurales de los rabdomiomas ----	105
-Rabdomiosarcomas-----	108
-Rabdomiosarcoma embrionario -----	108
-Definición y consideraciones generales -----	108
-Características clínicas-----	110
-Características macroscópicas -----	110
-Características microscópicas-----	110
-Características inmunohistoquímicas -----	112
-Características citogenéticas -----	112
-Rabdomiosarcoma alveolar -----	114

-Definición y consideraciones generales -----	114
-Características macroscópicas -----	115
-Características microscópicas-----	115
-Características inmunohistoquímicas -----	116
-Características citogenéticas -----	116
-Rabdomiosarcoma pleomórfico -----	118
-Definición y consideraciones generales -----	118
-Características macroscópicas -----	118
-Características microscópicas-----	118
-Características inmunohistoquímicas -----	119
-Características genéticas-----	119
-Características ultraestructurales-----	119
-Tumores condrales -----	124
-Tumores de diferenciación incierta -----	126
-Mixomas -----	126
-Mixoma yuxta-articular -----	127
-Definición -----	127
-Características clínicas-----	127
-Características macro- y microscópicas -----	128
-Técnicas especiales-----	128
-Características ultraestructurales -----	129
-Angiomixoma agresivo-----	130
-Definición -----	130
-Consideraciones generales -----	130
-Características clínicas-----	130

-Características macro- y microscópicas -----	131
-Técnicas especiales-----	132
-Características ultraestructurales -----	132
-Angiomixoma superficial -----	133
-Definición -----	133
-Características clínicas-----	134
-Características macro- y microscópicas -----	134
-Técnicas especiales-----	135
-Características ultraestructurales -----	135
-Tumor fibromixoide osificante-----	135
-Definición -----	135
-Consideraciones generales -----	136
-Características macroscópicas -----	136
-Características microscópicas-----	136
-Características inmunohistoquímicas -----	137
-Características citogenéticas -----	137
-Características ultraestructurales -----	137
-Conclusiones-----	138
-Mixoma cardíaco-----	138
-Definición -----	138
-Consideraciones generales y características clínicas---	138
-Características macroscópicas -----	139
-Características microscópicas-----	139
-Características inmunohistoquímicas -----	140
-Características ultraestructurales -----	140

-Condrosarcoma mixoide extraesquelético-----	143
-Definición-----	143
-Características clínicas -----	143
-Características macroscópicas-----	143
-Características microscópicas -----	144
-Características inmunohistoquímicas-----	145
-Características citogenéticas-----	145
-Características ultraestructurales-----	146
-Teorías histogenéticas -----	147
-Relación entre distintas variedades de condrosarcoma----	149
-Paracordoma -----	150
-Definición-----	150
-Características macro- y microscópicas-----	151
-Características inmunohistoquímicas-----	151
-Características citogenéticas-----	151
-Características ultraestructurales-----	152
-Cordomas -----	155
-Definición -----	155
-Características clínicas-----	155
-Características macroscópicas -----	155
-Características microscópicas-----	155
-Características inmunohistoquímicas -----	156
-Características citogenéticas -----	157
-Características ultraestructurales -----	158
-Teorías histogenéticas-----	159

-Conclusiones -----	161
-Tumores neurales -----	162
-Schwanoma-----	162
-Definición -----	162
-Consideraciones generales -----	162
-Características clínicas -----	163
-Características macroscópicas-----	164
-Características microscópicas -----	164
-Características inmunohistoquímicas-----	165
-Características citogenéticas-----	166
-Características ultraestructurales -----	166
-Neurofibromas -----	167
-Definición -----	167
-Consideraciones generales -----	167
-Características macroscópicas y clínico-patológicas -----	168
-Características microscópicas -----	169
-Características inmunohistoquímicas-----	169
-Características ultraestructurales -----	170
-Mixoma de vaina de nervio: neurotequeomas -----	171
-Definición -----	171
-Consideraciones generales -----	171
-Características clínicas -----	172
-Características macroscópicas-----	172
-Características microscópicas -----	172
-Características inmunohistoquímicas-----	173

-Características ultraestructurales-----	174
-Tumores malignos de vaina de nervio periférico-----	174
-Definición-----	174
-Consideraciones generales-----	174
-Características clínicas y macroscópicas-----	175
-Características microscópicas-----	175
-Características inmunohistoquímicas-----	176
-Características citogenéticas y genética molecular-----	176
-Características ultraestructurales-----	176
-Conclusiones-----	177
-Miscelánea-----	180
-ESTUDIO HISTOGENÉTICO-----	181
-Modelos de diferenciación celular en el desarrollo embrionario	181
-Desarrollo general del tejido conjuntivo-----	181
-Desarrollo del tejido adiposo-----	185
-Desarrollo de las vellosidades placentarias-----	185
-Estudio de la gelatina de Wharton en cordones umbilicales -	186
-Células perivasculares-----	187
-Pericitos-----	187
-Sarcoma de Kaposi-----	189
-Células epitelioides perivasculares (Pec)-----	189
-Células fibrilares-----	189
-Células madre mesenquimales-----	190

CONCLUSIONES-----	193
BIBLIOGRAFÍA -----	198
ANEXOS -----	235
-ANEXO 1: Glicosaminglicanos-----	235
-ANEXO 2: Artículo-----	239

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN:

TUMORES MIXOIDES DE PARTES BLANDAS

Aunque la mayoría de los tumores y lesiones no tumorales de partes blandas pueden exhibir cierto grado de cambio mixoide focal que, en ocasiones, se produce por degeneración, necrosis o edema a consecuencia de traumatismos o isquemia; existe un grupo de tumores cuya característica definitoria es una morfología predominantemente mixoide, debida a una abundante matriz mixoide extracelular (ver ANEXO 1).

Las lesiones mixoides (de las que se han descrito más de 60 tipos) se pueden dividir, según Allen y cols.¹ en :

- Mixomas de partes blandas
- Mixomas no de partes blandas,
- Mixomas inespecíficos,
- Tumores mixoides de partes blandas o lesiones no clasificables como mixomas,
- Entidades mixoides de diferenciación adiposa,
- Otras lesiones de partes blandas y tumores que a veces son mixoides,
- Otros tumores de partes blandas en los que se pueden encontrar focos mixoides,
- Entidades de partes blandas no neoplásicas.

Algunas de las clasificaciones de los tumores de partes blandas utilizan como criterio de clasificación el aspecto de la neoplasia formando, por lo tanto, grupos puramente descriptivos: tumores fusocelulares, tumores de células redondas, tumores pleomórficos y tumores mixoides. Así, este último grupo, del que trata este estudio, constituye una de las “áreas de conocimiento” de la patología de las partes blandas².

La textura de la matriz extracelular característica de este grupo: la matriz mixoide se debe a la abundancia de glicosaminglicanos.

Cuáles son los tumores mixoides de partes blandas

El grupo de tumores que estudiaremos incluye tanto variantes mixoides de tumores de partes blandas que pueden no ser mixoides (lipoma mixoide, liposarcoma mixoide, dermatofibrosarcoma protuberans mixoide, fibrohistiocitoma maligno mixoide, condrosarcoma mixoide, fascitis nodular mixoide, neurofibroma mixoide, leiomiosarcoma mixoide, tumor maligno de vaina nerviosa mixoide), como tumores mixoides propiamente dichos que no aparecen en otras formas no mixoides (mixoma cardíaco, mixoma intramuscular, mixoma yuxtarticular, mixoma de vaina nerviosa, angiomixoma superficial, angiomixoma agresivo, mixofibrosarcoma, sarcoma fibromixoide de bajo grado, etc.).

En cualquier caso, dentro de este grupo, se incluye un amplio espectro de lesiones en cuanto a su comportamiento biológico y que sin embargo comparten en muchas ocasiones un cuadro histológico similar o con diferencias muy sutiles por lo que se presentan al patólogo como problemas de diagnóstico diferencial incluso en el momento de distinguir histológicamente lesiones benignas de malignas o lesiones agresivas localmente de lesiones potencialmente metastatizantes^{3,4}.

No existe una clasificación histológica universalmente aceptada de los tumores mixoides de partes blandas, que los separe nítidamente, ni se usan criterios histogenéticos puesto que en muchas de estas entidades es un tema muy debatido cuál es la célula de origen del tumor.

Debido al solapamiento morfológico que presentan estos tumores, generalmente se ha recurrido al uso de técnicas complementarias como auxilio diagnóstico (histoquímica, inmunohistoquímica, microscopía electrónica, citogenética). En algunas

series, el porcentaje de tumores inclasificables usando como técnicas complementarias inmunohistoquímica y microscopía electrónica alcanza el 6,1%⁵.

Existen estudios recientes³ que intentan sistematizar el diagnóstico de los tumores mixoides de partes blandas basándolo fundamentalmente en un cuidadoso examen de las características histológicas de estos tumores y una correlación con sus rasgos clínicos relevantes: sexo, edad, localización y profundidad de la lesión, así:

Tumores dérmicos o subcutáneos: mixoma digital, angiomixoma superficial, angiomixoma agresivo, mixofibrosarcoma, mixolipoma, ganglión, fascitis nodular mixoide, neurofibroma mixoide, neurotequeoma, dermatofibrosarcoma protuberans mixoide, tumor fibromixoide osificante y

Tumores profundos: mixoma intramuscular, mixoma yuxtarticular, mixofibrosarcoma, sarcoma fibromixoide de bajo grado, leiomiosarcoma mixoide, tumor maligno de vaina nerviosa mixoide, liposarcoma mixoide, condrosarcoma mixoide extraesquelético, endimoma mixopapilar de los tejidos blandos.

Combinando ambos criterios se plantea un diagnóstico diferencial recortado y se optimiza el uso de técnicas complementarias, sobre todo de la inmunohistoquímica. También recientemente otros trabajos estudian los tumores mixoides tanto desde el punto de vista inmunohistoquímico como ultraestructural y genético molecular⁴.

Además, los tumores mixoides de partes blandas plantean otro reto desde el punto de vista histogenético que hace más atractivo el estudio ultraestructural de los mismos. Y es que, la abundancia de matriz extracelular facilita la individualización de las células mesenquimales neoplásicas, lo que permite ver qué relaciones existen entre los distintos tipos celulares, su grado de diferenciación, la relación con estructuras tisulares (tales como los vasos) y por tanto, podrían servir de modelo para la identificación de patrones de diferenciación, células mesenquimales pluripotenciales, etc.

Técnicas especiales en el estudio de los tumores mixoides de partes blandas:

Las técnicas especiales que se utilizan en el estudio de estos tumores incluyen:

HISTOQUÍMICA

En la década de los 70 y de los 80, la tinción con azul alcian mediante la técnica de la concentración electrolítica crítica, se utilizó como criterio válido de diagnóstico diferencial, basándose en que determinados tipos de tumor podrían ser diferenciados dependiendo de su tinción con azul alcian a concentraciones progresivamente ascendentes de cloruro magnésico (dependiente del pH). Sin embargo, en la mayor parte de los casos, no se podía emplear como un discriminador sensible puesto que la mayoría de los tumores mixoides de partes blandas, excluyendo aquellos de diferenciación condral o de vaina nerviosa, contienen ácido hialurónico y, por lo tanto, la técnica no tiene valor diagnóstico en casi ningún caso. Otras técnicas de tinción de mucinas son: el ácido periódico de Schiff con predigestión de diastasa que tiñe mucinas neutras, el hierro coloidal que tiñe mucinas ácidas, el azul de toluidina, etc³. Se trata de técnicas poco discriminativas ante la gran variedad de nuevos tumores mixoides descritos que comparten las mismas propiedades tintoriales de su matriz extracelular pero que, en determinados casos, pueden ser útiles y, en general, están al alcance de cualquier laboratorio. Por ejemplo, existen trabajos de diagnóstico por punción-aspiración de este tipo de tumores que usan para el diagnóstico diferencial entre el condrosarcoma mixoide y el resto de tumores mixoides sobre todo el fibrohistiocitoma maligno mixoide de bajo grado, las características tintoriales metacromáticas de su matriz con la técnica de Diff-Quik que no presenta ninguna de las otras entidades estudiadas (mixomas intramusculares, lipoblastomas, liposarcomas mixoides, fibrohistiocitomas malignos mixoides)^{6, 7}.

INMUNOHISTOQUÍMICA (ver tabla 1)

Es la técnica más utilizada actualmente para resolver problemas de diagnóstico diferencial. Incluso se han desarrollado clasificaciones de los tumores de partes blandas cuyo criterio de clasificación es el tipo de filamentos intermedios que contienen las células revelados por anticuerpos monoclonales⁸. Los anticuerpos más utilizados en este grupo de tumores son: S100, actina muscular específica, actina de músculo liso y desmina. También se usan queratinas, proteína glial fibrilar ácida y CD34 (tabla 1).

Sin embargo, la inmunohistoquímica es una técnica que presenta una serie de desventajas frente al uso del microscopio electrónico como desarrollaremos más adelante y que puede provocar errores de interpretación. Según ha aumentado el número de antisueros aplicados a los tumores de partes blandas, han ido apareciendo mayor número de positividads paradójicas o no esperadas que indican o una falta de especificidad de la técnica o una diferenciación multidireccional de los tumores (mesenquimomas)⁹.

Las técnicas de inmunohistoquímica han revolucionado el diagnóstico de tumores indiferenciados hasta el punto de plantear la utilidad de los estudios ultraestructurales sin embargo, presentan una serie de limitaciones que el uso del microscopio electrónico puede solventar. Las limitaciones más relevantes son¹⁰:

- Existen tumores que no son inmunorreactivos.
- Cuando la tinción es débil, el tumor ¿es realmente positivo?
- Ausencia de reproductibilidad de la técnica entre distintos laboratorios.
- Especificidad relativa de los anticuerpos.
- Se trata de una técnica “secundaria” (al igual que la histoquímica y la

hibridación in-situ) es decir, no aporta una aproximación diagnóstica “a priori” sino que

precisa de una hipótesis previa que puede llevar a graves errores de interpretación de la técnica aunque ésta se realice en condiciones ideales.

- Además depende de una reacción físicoquímica que puede fallar.

CITOGENÉTICA (ver tabla 2)

Desde que recientemente se desarrolla esta técnica, se han encontrado asociaciones entre alteraciones genéticas específicas y determinados tipos de tumor (tabla 2). Por ejemplo, dentro del grupo de los tumores mixoides de partes blandas: el liposarcoma mixoide (t(12;16)(q13;p11), t(12;22)(q13;p11)), el condrosarcoma mixoide (t(9;22)(q22-31;q11-12)) y el angiomixoma agresivo (t(5;12)(q31;p11)) parecen estar asociados con estas alteraciones genéticas de forma bastante específica, por lo que éstas podrían utilizarse como marcadores diagnósticos¹¹. Sin embargo, todavía no se conocen las alteraciones genéticas de la mayoría de los tumores, ni el grado de especificidad de las mismas. Además se trata de una técnica que aún no se utiliza rutinariamente en la gran mayoría de los laboratorios.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Aunque generalmente se etiqueta la microscopía electrónica como una técnica especial, en realidad no representa más que una modificación y extensión de la microscopía óptica tradicional. En realidad, ambas técnicas se complementan perfectamente; el microscopio de luz presenta condiciones ideales para el estudio de conjuntos de células; el microscopio electrónico sin embargo, las presenta para el estudio de células aisladas. Ambas aportan una aproximación morfológica directa al diagnóstico y se consideran, por lo tanto, técnicas primarias en las que se basa el diagnóstico histológico¹⁰.

El que la microscopía electrónica sea de hecho una prolongación, a mayor aumento, de la microscopía óptica, permite:

- Detectar signos de diferenciación sutiles,
- Valorar en áreas adecuadamente seleccionadas, gradientes o variaciones madurativas en tumores polimorfos,
- Hacer una aproximación diagnóstica a tumores de histopatología similar, tales como tumores de células redondas¹², tumores pleomórfos^{13, 14} o tumores fusocelulares¹⁵.
- Demostrar rasgos submicroscópicos característicos de determinados tumores,
- Demostrar rasgos submicroscópicos comunes a diversas neoplasias (véase más adelante).

Los principales inconvenientes de la técnica son:

- Sólo puede estudiarse una pequeña cantidad de tejido que debe ser cuidadosamente elegida como muestra representativa de la masa tumoral y que por lo tanto puede ocasionar errores de muestreo. Este inconveniente es particularmente probable en tumores poco celulares tales como los tumores mixoides de partes blandas, en los que puede darse el caso de elegir campos acelulares no representativos de la neoplasia.
- Células de diferente origen pueden tener un aspecto similar.
- Una misma célula puede adoptar aspectos muy variables a lo largo de su maduración o en diferentes momentos de actividad.

Estudio ultraestructural de los tumores mixoides de partes blandas: Diagnóstico

Las características ultraestructurales de los tumores mixoides de partes blandas han sido descritas en numerosas ocasiones; fundamentalmente las de las entidades

clásicas (liposarcoma mixoide, mixoma cardíaco, mixoma yuxtarticular, mixoma intramuscular, condrosarcoma mixoide, fibrohistiocitoma maligno mixoide, etc.). La gran mayoría de los trabajos publicados analizan las características ultraestructurales de entidades concretas^{16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39} describiendo sus características celulares y en ocasiones filiando el tipo celular y la histogénesis tumoral aprovechando la mayor resolución de esta técnica. Sin embargo, no son muchos los trabajos en la literatura que se dedican a analizar las características ultraestructurales de distintos tumores mixoides de partes blandas comparándolos y realizando un diagnóstico diferencial entre ellos por sus rasgos ultraestructurales, bien celulares, de la matriz, o de la relación entre células y matriz^{40, 41, 42, 43, 44, 4}. La mayor parte de los trabajos en la literatura que tratan sobre el diagnóstico diferencial de los tumores mixoides de partes blandas recomiendan la utilización de la microscopía electrónica para realizar este diagnóstico, aunque también hay algunos autores que, en entidades concretas como el fibrohistiocitoma maligno mixoide dudan de su utilidad dada la heterogeneidad de las células que lo componen¹⁹. En este mismo trabajo basándose en los hallazgos ultraestructurales, los autores proponen una hipótesis histogénicas de estas neoplasias: la existencia de una célula madre pluripotencial con diferenciación heterogénea.

Estudio ultraestructural de los tumores mixoides de partes blandas: Estudio histogénico

El estudio histogénico de los tumores siempre choca con dos tipos de problemas:

- La morfología de un tumor muestra el estado de diferenciación de las células tumorales que no tiene que ser necesariamente el punto de maduración en el que se ha

producido la alteración genética. Por ejemplo, el caso clásico más conocido es el de la leucemia mieloide crónica, en la que las alteraciones genéticas se producen en la célula madre pero las células neoplásicas muestran diferenciación hacia elementos maduros de diversas estirpes. Como ya hemos comentado, en el momento actual, se conocen alteraciones citogenéticas asociadas a gran cantidad de tumores de partes blandas pero en la mayor parte de los casos se desconoce la célula en la que se ha producido la lesión y sus efectos oncogénicos.

- El segundo problema a tener en cuenta es la probabilidad de que las alteraciones genéticas que provocan la aparición de una neoplasia, pueden producir alteraciones morfológicas tales que hagan irreconocible la célula de origen.

Desde este punto de vista el estudio ultraestructural con fines histogenéticos debe tener en cuenta la probabilidad de encontrar:

a) Células en diferentes estadios madurativos,

Para reconocer diferentes estadios de maduración en las células neoplásicas que se observan es necesario un conocimiento previo de su aspecto ultraestructural en tejido mesenquimal no neoplásico en distintas etapas de la maduración. En el problema concreto que planteamos, respecto a los tumores mixoides de partes blandas, el tejido mixoide no neoplásico por excelencia que puede servir de modelo es la gelatina de Wharton⁴⁵. En la que se observan células mesenquimales primitivas en las que aumenta progresivamente el contenido de actina-alfa de músculo liso a partir del segundo trimestre del desarrollo embrionario hasta madurar hacia miofibroblastos. Es en este tejido donde se han definido las características del miofibroblasto, aunque otros trabajos relacionan estas células estromales de la gelatina de Wharton con pericitos o células musculares lisas perivasculares⁴⁶.

Otros modelos comparativos que se han utilizado para estudiar el desarrollo y la maduración de células no neoplásicas son:

-El estudio del desarrollo del estroma de las vellosidades placentarias como modelo de maduración del miofibroblasto. Estudio en el que los autores plantean que las células se diferencian a partir del citotrofoblasto a células mesenquimales primitivas que forman vasos y, de éstas, a células musculares lisas que forman paredes vasculares maduras (habiendo pasado antes por fibroblastos y miofibroblastos)^{47, 48}.

-La maduración del tejido adiposo, habiéndose observado que las células menos diferenciadas se encuentran en torno a los vasos y contienen menor cantidad de gotas lipídicas y éstas son de menor tamaño, mientras que la maduración (aumento del contenido de grasa celular) es progresiva según la célula se encuentre más alejada de los vasos⁴⁹.

Por último, la morfología ultraestructural de las células mesenquimales en desarrollo se han utilizado como modelo comparativo para identificar la estirpe de células neoplásicas en los tumores mesenquimales, así, Wetzel²⁰ estudia las características ultraestructurales de liposarcomas en relación con las células que aparecen en el desarrollo normal del tejido adiposo y Dickersin⁵⁰ plantea un diagnóstico histogenético de los tumores, basándose en las similitudes ultraestructurales que encuentra con el desarrollo embrionario de determinados tejidos.

b) Diversas estirpes celulares.

En cuanto a que podamos encontrarnos distintas estirpes celulares en una neoplasia hay trabajos que estudian la diferenciación celular neoplásica de tumores mesenquimales analizando las características ultraestructurales que presentan los tumores primitivos y las divergencias madurativas que adquieren o pierden al ser

injertados en ratones. Estos estudios apoyan la teoría de la diferenciación multidireccional de una célula madre multipotencial progenitora de los tumores mesenquimales modificada por el microambiente^{51, 52}.

Otros autores se refieren a la existencia de una célula madre pluripotencial mesenquimal, de estirpe neural y circulante que tendría la capacidad, en situaciones patológicas (neoplasias y cicatrices) de transdiferenciarse hacia células mesenquimales de cualquier tipo. Proponen que la alteración de la regulación de este proceso sería la causa, por ejemplo, de los condrosarcomas o de algunas enfermedades neurales en las que se acumula glia⁵³.

En cualquier caso, la estirpe celular dependerá no sólo de la célula de origen del tejido, sino también de la influencia del ambiente molecular que las rodea, en concreto, de los factores de crecimiento liberados en la matriz extracelular (y de la composición de glicosaminglicanos tal y como hemos discutido al principio de esta introducción). Así, se ha observado que la transformación progresiva de células de estirpe epitelial en células mesenquimales en cultivos celulares de epitelio de vías biliares se produce bajo la influencia del factor de crecimiento tumoral beta-1⁵⁴.

En resumen, los tumores mixoides de partes blandas representan un grupo heterogéneo en cuanto a su comportamiento biológico y en cuanto a su origen celular que, en algunos casos es desconocido. Sin embargo, es un grupo muy homogéneo en su aspecto histológico y macroscópico (constituyendo una de las áreas de conocimiento de los tumores de partes blandas en algunas clasificaciones), debido a las características de su matriz extracelular. Por ello, plantea un interesante problema de diagnóstico diferencial para el que pensamos que una aproximación ultraestructural asociada a una

estrecha correlación clínico-patológica y en ocasiones apoyada en técnicas de inmunohistoquímica, resultaría más útil.

El hecho común a todos ellos de poseer una amplia matriz facilita el aislamiento y estudio ultraestructural de las células, puesto que están más separadas.

La técnica de microscopía electrónica, además, posibilita un estudio de la histogénesis de estos tumores debido a su mayor poder de resolución sobre otras técnicas. Este estudio histogenético podría apoyarse en modelos embrionarios, tal y como se ha intentado ya en la literatura. En este sentido, también sería interesante describir la relación entre las células neoplásicas con distintos grados de diferenciación y la vascularización neoplásica, comparándolas con las que se establecen en los modelos del desarrollo embrionario del tejido mesenquimal descritos en la literatura y que se han comentado anteriormente, en los que se pone de manifiesto la importancia de esta relación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los aspectos que desarrollaremos en la introducción al estudio son:

1) El objeto de este estudio son los tumores mixoides de partes blandas, por dos razones:

-Constituyen una categoría diagnóstica general en las clasificaciones de tumores de partes blandas que plantea un importante problema de diagnóstico diferencial, ya que muchos de ellos tienen un aspecto histológico parecido y, sin embargo, comportamientos biológicos distintos.

-El hecho común a todos ellos de que presenten una amplia matriz intercelular, facilita el estudio ultraestructural de células aisladas y de sus patrones de distribución, porque están más separadas.

2) La técnica con la que vamos a estudiarlos es la microscopía electrónica, por dos razones:

- Porque presenta una serie de ventajas y peculiaridades sobre otras.
- porque permite identificar elementos comunes entre distintas entidades que sugieren hipótesis histogenéticas.

3) En consecuencia las preguntas que planteamos son:

- ¿Existen patrones ultraestructurales que sirvan para realizar el diagnóstico diferencial de tumores mixoides de partes blandas?
- ¿Existen elementos celulares y/o patrones de distribución celular o de diferenciación comunes entre ellos que sugieran un origen común?

4) De ellos se extrae que con el material del que disponemos, vamos a realizar dos líneas de estudio, con métodos y resultados aislables:

- Un estudio orientado al diagnóstico de entidades.
- Un estudio orientado a la identificación de elementos comunes entre entidades distintas y también con tejidos no neoplásicos.

OBJETIVOS

El objetivo fundamental del presente trabajo es estudiar los patrones ultraestructurales de una amplia casuística de tumores mesenquimales mixoides, principalmente en dos sentidos:

- a) Diagnóstico: Reconocer patrones ultraestructurales con valor diagnóstico en diversas entidades.
- b) Histogenético: Reconocer rasgos ultraestructurales de diferenciación de estirpe y su expresión en diferentes entidades.

Para ello se tratará de valorar:

- a) Tipos de células presentes en las diversas entidades
- b) Células cuya estirpe quede indiscutiblemente definida por su morfología submicroscópica, estas células pueden constituir la totalidad del tumor o sólo parte.
- c) Elementos neoplásicos que aunque no tengan un origen conocido permitan definir una neoplasia.
- d) Patrones de crecimiento celular y modificaciones morfológicas asociadas a la diferenciación.

MATERIALES Y MÉTODO

MATERIALES Y MÉTODO:

PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS

Se eligieron los casos del archivo de la sección de microscopía electrónica del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre. Este archivo es de carácter diagnóstico, es decir, incluye los casos en que se realizó estudio ultraestructural como método auxiliar de diagnóstico. El periodo de revisión incluía los casos del archivo desde su comienzo en el año 1976 hasta 2000.

SELECCIÓN DE CASOS

El proceso de inclusión se realizó en dos fases:

a) Se identificaron todos los tumores de partes blandas en los que el patrón mixoide constituye un rasgo diagnóstico o dominante según los criterios aceptados en la literatura^{55, 56, 57, 3}, así como los tumores de partes blandas que pueden tener zonas de patrón mixoide:

-Tumores adipocíticos:

1) lipoblastoma

2) lipoma condroide

3) lipoma pleomórfico o de células fusiformes

4) hibernoma mixoide

5) liposarcoma mixoide/células redondas

6) liposarcoma mixto (mixoide/células redondas y bien diferenciado; mixoide/células redondas y pleomórfico

7) liposarcoma pleomórfico mixoide

-Tumores fibroblásticos/miofibroblásticos:

- 1)fascitis nodular (seudotumoral)
- 2)fascitis proliferativa y miositis proliferativa
- 3)miositis osificante y pseudotumor fibro-óseo de los dedos (lesión reparativa)
- 4)fascitis isquémica (seudosarcomatosa)
- 5)elastofibroma (con zonas mixoides)
- 6)hamartoma fibroso de la infancia (zonas de células mesenquimales primitivas)
- 7)fibromatosis colli (con zonas mixoides)
- 8)fibroblastoma desmoplásico
- 9)miofibroblastoma de tipo mamario
- 10)angiomiofibroblastoma
- 11)angiofibroma celular (con zonas mixoides)
- 12)angiofibroma de células gigantes (con zonas mixoides)
- 13)fibromatosis desmoide (sobre todo las mesentéricas y pélvicas)
- 14)tumor fibroso solitario extrapleural mixoide
- 15)tumor miofibroblástico inflamatorio (seudotumor inflamatorio)
- 16)sarcoma fibroblástico mixoinflamatorio
- 17)fibrosarcoma infantil (con zonas mixoides)
- 18)fibrosarcoma del adulto (con cambio mixoide)
- 20)mixofibrosarcoma
- 21)sarcoma fibromixoide de bajo grado

-Tumores denominados fibrohistiocíticos (también incluyen células de tipo fibroblástico):

- 1)tumor de células gigantes de tipo difuso (con cambio mixoide)

2)fibrohistiocitoma benigno profundo (con cambio mixoide)

-Tumores de músculo liso:

1)angioleiomioma (con cambio mixoide)

2)leiomioma de partes blandas profundas (con cambio mixoide)

3)leiomiosarcoma mixoide

-Tumores pericíticos:

1)miopericitoma (con zonas mixoides)

-Tumores de músculo estriado:

1)rabdomioma (sobre todo fetal clásico)

2)rabdomiosarcoma embrionario

-Tumores condroides:

1)condroma de partes blandas

-Tumores de diferenciación incierta:

1)mixoma intramuscular

2)mixoma yuxta-articular

3)angiomixoma agresivo profundo

4)fibrohistiocitoma angioma-toide (con cambio mixoide)

5)tumor fibromixoide osificante

6)tumor mixto/mioepitelioma/paracordoma

7)sarcoma sinovial (con cambio mixoide)

- 8)condrosarcoma mixoide extraesquelético
- 9)mesenquimoma maligno (con zonas de liposarcoma mixoide)
- 10)sarcomas intimaes (con cambio mixoide)

-Cordoma

-Tumores cutáneos dérmicos

- 1)dermatofibroma mixoide
- 2)dermatofibrosarcoma protuberans mixoide

-Tumores de estirpe neural

- 1)schwanoma mixoide (abundantes zonas de tipo Antoni B)
- 2)neurotequeoma (clásico y celular)
- 3)neurofibroma mixoide
- 4)perineuroma (con zonas mixoides)
- 5)tumor maligno de vaina de nervio periférico (con zonas mixoides)

b) Además de los casos que por su diagnóstico se incluían en el listado anterior, se revisaron todos los casos de partes blandas en los que el informe ultraestructural describía una matriz mixoide (tumores y lesiones pseudotumorales). Cuando se comprobó que los cortes ultraestructurales correspondían a áreas mixoides en la histología se incluyeron estas lesiones, en caso contrario se rechazaron.

ESTUDIO DE LOS CASOS

De los casos seleccionados se recogió la información clínica pertinente: edad, sexo, localización, diámetro máximo de la lesión, aspecto macroscópico de la misma (sobre todo respecto a si su aspecto macroscópico era mixoide o no).

Se revisó el material histológico de archivo de los casos incluidos. Se utilizaron los criterios diagnósticos histológicos citados en la literatura ^{3, 55, 56, 57} y los casos de mayor dificultad diagnóstica fueron revisados por un experto en esta área de diagnóstico. En los casos de diagnóstico dudoso, cuando se consideró necesario, se complementó el diagnóstico con técnicas de inmunohistoquímica.

MÉTODOS ULTRAESTRUCTURALES.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El material incluido para estudio ultraestructural procedía de tejido fresco o fijado en formol. En todo caso se tallaron bloques de 1 mm³ que se fijaron en reactivo de Karnovsky ⁵⁸ durante 2-24 horas y tras lavados en tampón de cacodilato se postfijaron en tetróxido de osmio. Tras sucesivos pases por alcohol a concentraciones crecientes y óxido de propileno se incluyeron en resina EPON12. Se realizaron cortes semifinos de 3-6 de los bloques incluidos que se tiñeron con azul de toluidina. Se seleccionaron al menos dos áreas de aspecto mixoide de morfología comparable a las zonas mixoides del estudio histológico. Se eligieron preferentemente zonas que contenían vasos, en los casos en que era posible. De estas zonas se realizaron cortes finos de 50-80 nm que se tiñeron con citrato de plomo y acetato de uranilo, según la técnica de Reynolds⁵⁹.

MÉTODOS DE ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL

En el examen ultraestructural se siguió la siguiente sistemática:

- a) Tipos celulares presentes
- b) Tipo celular predominante o más diferenciado (diagnóstico)
- c) Extensión y características de la matriz
- d) Relación de las células con la matriz: disposición de las células aisladas, en nidos o trabéculas; presencia o no de lámina externa.
- e) Relación de las células con los vasos: distribución, distancia y tipos celulares predominantes, dependiendo de la misma.
- f) Relaciones intercelulares: interdigitaciones y/o uniones
- g) Forma de las células
- h) Diferenciaciones de la membrana celular: Prolongaciones, uniones y pinocitosis
- i) Extensión del citosol, cantidad relativa de organelas, presencia de orgánulos específicos.
- j) Forma del núcleo, disposición de la cromatina, otras características nucleares.

En lo que se refiere a los tipos de células encontrados se trató de separar en dos grupos:

A) Elementos de morfología similar a componentes normales o reactivos del tejido conjuntivo

B) Células cuya morfología no permitía reconocer una diferenciación similar a componentes normales.

A) Los elementos con contrapartida reconocible eran:

1. Fibroblastos: Células fusiformes o estrelladas con prolongaciones dendríticas sin otras diferenciaciones de membrana y con marcado desarrollo del retículo endoplásmico rugoso (RER).

2. Miofibroblastos: Células semejantes a fibroblastos pero con evidentes haces de filamentos finos con cuerpos densos. Los miofilamentos se disponen paralelos a la membrana plasmática o ligados a las placas densas subplasmolemales y en algunos puntos se extienden más allá de la membrana, en el estroma, como bandas densas que tiene un aspecto finamente filamentoso a grandes aumentos y se van afilando según se alejan de la célula. Estas estructuras son los denominados microtendones, fibronexos o fibras de anclaje y se asocian a bandas de fibronectina en la matriz.

3. Células de músculo liso: Células fusiformes con haces de filamentos finos con cuerpos densos que ocupan zonas apreciables de citoplasma, vesículas de pinocitosis y formación de lámina externa total o parcial.

4. Células de músculo estriado: Elementos de forma variable, con frecuencia rodeados parcial o totalmente por lámina externa, en los que resulta imprescindible para su identificación la detección de filamentos finos y gruesos alternantes. No se consideró necesaria la detección de bandas Z.

5. Células adiposas: Células con disposición aislada o en pequeños grupos, pero sin uniones intercelulares, estando siempre separadas por una cantidad variable de matriz. Las células suelen estar rodeadas por material algodonoso, levemente electrodensos. Su característica definitoria es la presencia de vacuolas de grasa, rodeadas o no por membrana. Para considerar las células como adiposas, se consideró imprescindible que gran parte de las células tuvieran el mismo aspecto y que no hubiera evidencia de que la grasa estaba fagocitada en macrófagos o que la célula tenía otro tipo de diferenciación.

6. Condrocitos: Al igual que los adipocitos era imprescindible para su reconocimiento que formasen parte de un grupo de células de aspecto similar y en una matriz específica. Se consideró necesario para su identificación que se tratase de células redondeadas, de membrana irregular, citoplasma abundante con moderado hialoplasma, sin organelas específicas y al menos algunas de las células debían tener lagos glucogénicos y moderado desarrollo del retículo endoplásmico.

7. Células de Schwann: Elementos con prolongaciones dendríticas largas e irregulares, lámina externa extensa a lo largo de las prolongaciones. La presencia de pseudomesoaxones no se consideró por si sola como signo de diferenciación hacia células de Schwann.

8. Fibroblasto perineural: Al igual que los adipocitos y condrocitos para su identificación se exigió que se presentaran en grupos. Sus características diferenciales son: finas prolongaciones bipolares lámina externa en una sola de las caras de las prolongaciones, pinocitosis más que ocasional.

B) Las células sin una contrapartida morfológica normal se estudiaron según la sistemática descrita en párrafos anteriores y se trató de identificar su relación con otros tipos de células y con los vasos.

C) Por último, se estudiaron muestras de cordón umbilical (gelatina de Wharton) para intentar realizar un estudio comparativo con un modelo embrionario de tejido mixoide no neoplásico⁴⁵.

RESULTADOS

RESULTADOS:

Debido a la procedencia de los casos de un archivo ultraestructural diagnóstico, la distribución porcentual de las entidades encontradas y estudiadas, no se corresponden con su incidencia en la población. Por ejemplo, en el caso de tumores frecuentes pero de diagnóstico fácil e inmediato mediante microscopía óptica, en los que no se suelen utilizar técnicas complementarias, no se encuentran representados en su frecuencia real. Incluso algunas entidades no están representadas en la serie. El material condiciona que de los resultados de la serie no se puedan extraer inferencias poblacionales, pero sí se puede observar repetición de patrones que sugieren signos diagnósticos o bien características comunes entre de tumores diferentes.

La serie que presentamos incluye un total de 100 casos. Se anularon 13 casos de la serie por las siguientes razones (tabla 3):

- ausencia de áreas mixoides en la revisión del material ultraestructural de archivo (6).

- pérdida del material de archivo o material de archivo no valorable o no representativo (7).

De la serie restante de 87 casos, 68 proceden de pacientes tratados en el mismo centro, mientras que 19 casos corresponden a muestras remitidas desde otros centros como casos de consulta.

En esta serie, la edad media es de 48,2 años con un rango entre 2 y 86 años. Se incluyen 49 hombres y 36 mujeres. La distribución en categorías diagnósticas se recoge en la tabla 4. Los hallazgos ultraestructurales generales se resumen en la tabla 5.

Se analizan los resultados por grupos neoplásicos según su línea de diferenciación:

TUMORES ADIPOCÍTICOS

En este grupo se estudiaron 13 casos: 1 liposarcoma pleomórfico con matriz mixoide, 2 casos de lipoma de células fusiformes, 1 tumor lipomatoso atípico o liposarcoma bien diferenciado con zonas fusocelulares con matriz mixoide y 9 liposarcomas mixoides. Sus características clínicas se resumen en las tablas 6 a 9.

LIPOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES Y TUMOR LIPOMATOSO ATÍPICO CON ZONAS FUSOCELULARES DE ESTROMA MIXOIDE

Los 2 casos que se incluyeron corresponden a varones de 67 y 68 años respectivamente y ambos presentaban la localización típica. El caso del liposarcoma bien diferenciado o tumor lipomatoso atípico se analiza en este grupo porque su aspecto histológico es similar al de los lipomas de células fusiformes, se diagnostica como tumor lipomatoso atípico debido a su localización retroperitoneal, tal y como recomienda la literatura cuando la localización no es la típica.

Características macroscópicas e microscópicas

Histológicamente se trata de tumores bien delimitados que muestran áreas de células fusiformes mezcladas con escasos adipocitos de aspecto maduro habitual. La cantidad de vasos era variable. Uno de ellos presentaba una abundante matriz mixoide, mientras que el otro caso presentaba un nódulo en el que predominaba este cambio, estando constituido el resto por zonas fusocelulares. Las zonas mixoides que se estudiaron ultraestructuralmente, correspondían a zonas con abundante matriz mixoide con abundante ácido hialurónico en la que se observaron escasos adipocitos maduros y ocasionalmente un componente fusocelular sin atipia y mastocitos. El liposarcoma bien

diferenciado retroperitoneal incluía zonas fusocelulares con mayor atipia y focalmente mixoides, que fue de dónde se tomaron las muestras para el estudio ultraestructural.

Características ultraestructurales

Sus características ultraestructurales en las zonas estudiadas se reflejan en las tablas 10 y 11. Los dos casos de lipomas fusocelulares estaban constituidos por una proliferación homogénea de células fusiformes sin signos de diferenciación evidentes (figura 1), observándose un patrón de distribución de las células en pequeñas trabéculas de localización perivascular en uno de los dos casos. En este caso, se observaron muy aisladas células más diferenciadas (mayor cantidad de grasa citoplasmática) más alejadas de los vasos. El liposarcoma bien diferenciado estaba constituido por las mismas células fusiformes primitivas con diferenciación miofibroblástica focal y algún lipoblasto. También se observaron células inmaduras de distribución trabecular perivascular. Estas células localizadas cerca de los vasos son características ultraestructurales indeterminadas y se describirán en profundidad más adelante puesto que aparecen en otros tipos de tumor.

LIPOSARCOMA MIXOIDE Y LIPOSARCOMA PLEOMÓRFICO DE ESTROMA MIXOIDE

No se observa predominio de ninguno de los sexos; la edad media es de 42,4 años; la localización más frecuente fue en tejidos blandos profundos de las extremidades inferiores que es la localización típica de esta neoplasia. Se incluyeron 2 casos de localización excepcional, uno en retroperitoneo y otro en tejido celular subcutáneo que presentaban las características histológicas diagnósticas de liposarcoma mixoide (patrón

vascular típico y presencia de lipoblastos) por lo que no se realizaron técnicas de inmunohistoquímica para confirmar el diagnóstico.

El tamaño de los tumores oscilaba entre los 5 y los 14 cms. de diámetro mayor, con una media de 10,1 cm.

El *liposarcoma pleomórfico con matriz mixoide* correspondía a un tumor en partes blandas abdominales de una mujer de 62 años

Características macroscópicas e microscópicas

Los liposarcomas mixoides presentaban las características histológicas diagnósticas de la entidad (figura 2). En un caso se observaron áreas muy maduras con aspecto de lipoma y en dos de los casos se observaron áreas edematosas de tipo “pulmonar”. En todos los casos se encontraron lipoblastos.

El liposarcoma pleomórfico mostraba lipoblastos y abundantes células pleomórficas con mitosis e intensa atipia nuclear en el seno de una matriz mixoide laxa (figura 3).

Características ultraestructurales

Las características ultraestructurales de los liposarcomas (incluido el liposarcoma pleomórfico y el liposarcoma bien diferenciado con zonas fusocelulares mixoides) se resumen en las tablas 12 y 13, en las que también se refleja qué casos contenían células redondas en los cortes histológicos.

Todos los casos mostraban como célula diagnóstica el lipoblasto, tal y como se define en el apartado de materiales y métodos, con una cantidad y tamaño variables de las vacuolas grasas citoplasmáticas. Esta era la célula que mostraba la línea de

diferenciación de la neoplasia y por tanto presentaba valor diagnóstico, su contrapartida celular normal es el adipocito.

En todos los casos de liposarcoma mixoide excepto en uno ($8/9 = 89\%$), los lipoblastos se asociaban a prelipoblastos y células de aspecto indeterminado y localización perivascular (figura 4). Probablemente en el caso en el que no se encontraron CPI se produjo un error de muestreo. Los prelipoblastos son células poligonales con escasas organelas citoplasmáticas, núcleo redondeado y escasas vacuolas de grasa citoplasmática que se encontraban cerca de los vasos capilares, las células de aspecto indeterminado presentaban un aspecto muy parecido y se encontraron en la misma localización pero no contenían vacuolas de grasa en el citoplasma, este tipo de célula se observó en otras entidades y se describirá en profundidad más adelante, las denominaremos genéricamente como células perivasculares indeterminadas (CPI). También en el liposarcoma pleomórfico se observaron CPI asociadas a los lipoblastos que eran más atípicos que en los casos de liposarcoma mixoide.

En 6 casos de liposarcoma mixoide ($6/9 = 67\%$) las CPI o los prelipoblastos se disponían formando trabéculas a cierta distancia de vasos de pequeño calibre (figuras 6 a 9). Se observaban aislados y más alejados de los vasos los lipoblastos con mayor cantidad de vacuolas grasas y de mayor tamaño (figura 5). Este patrón de distribución también se observaba en el liposarcoma pleomórfico. Además se observaron células con características intermedias entre las CPI, los prelipoblastos y los lipoblastos en el proceso de adquisición progresiva de grasa intracitoplasmática (figura 4C).

En algunos casos ($2/8$; 25%) se observó además, una condensación algodonosa de la matriz extracelular rodeando a las células, sin que en ningún caso se encontrara membrana basal (figura 4B).

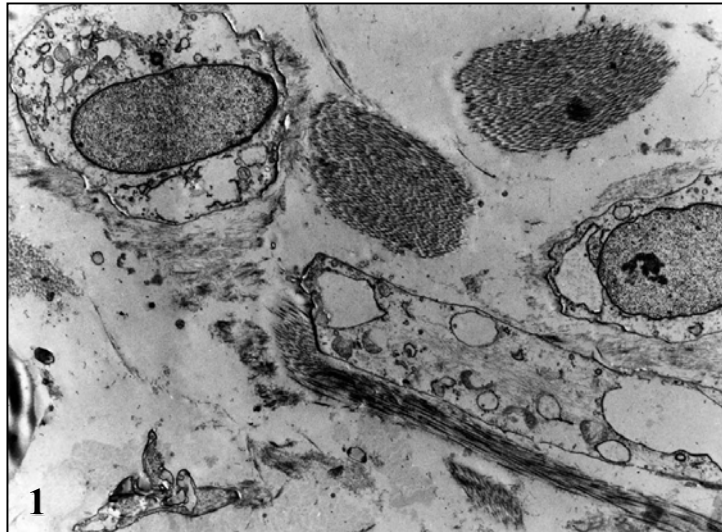


Figura 1: lipoma de células fusiformes. Se observan células fusiformes sin rasgos de diferenciación evidentes y algunas células más diferenciadas con mayor cantidad de grasa citoplasmática.

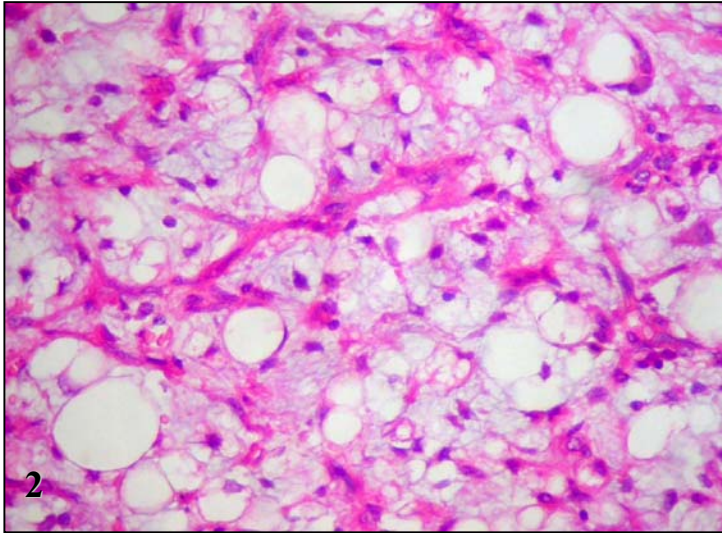


Figura 2: Patrón típico de liposarcoma mixoide, que consiste en vasos capilares finos ramificados rodeados de lipoblastos con mayor o menor cantidad de vacuolas grasas de diferentes tamaños.

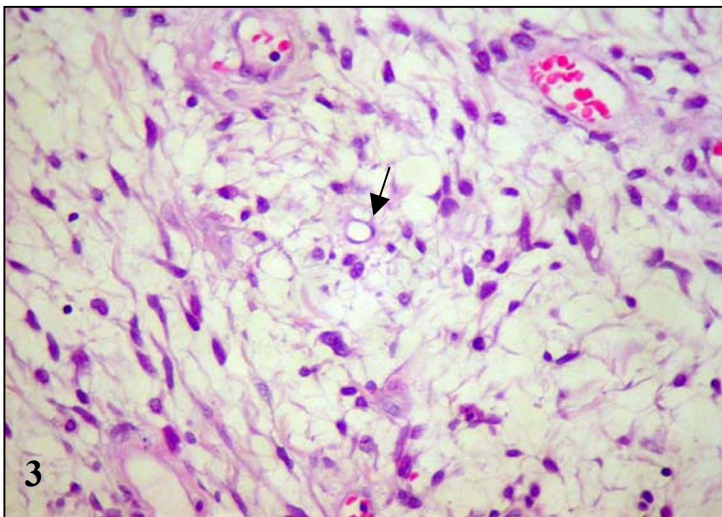


Figura 3: liposarcoma pleomórfico. Las células son más atípicas que en los liposarcomas mixoides y el patrón vascular no es plexiforme. Ocasionalmente se observan lipoblastos (flecha).

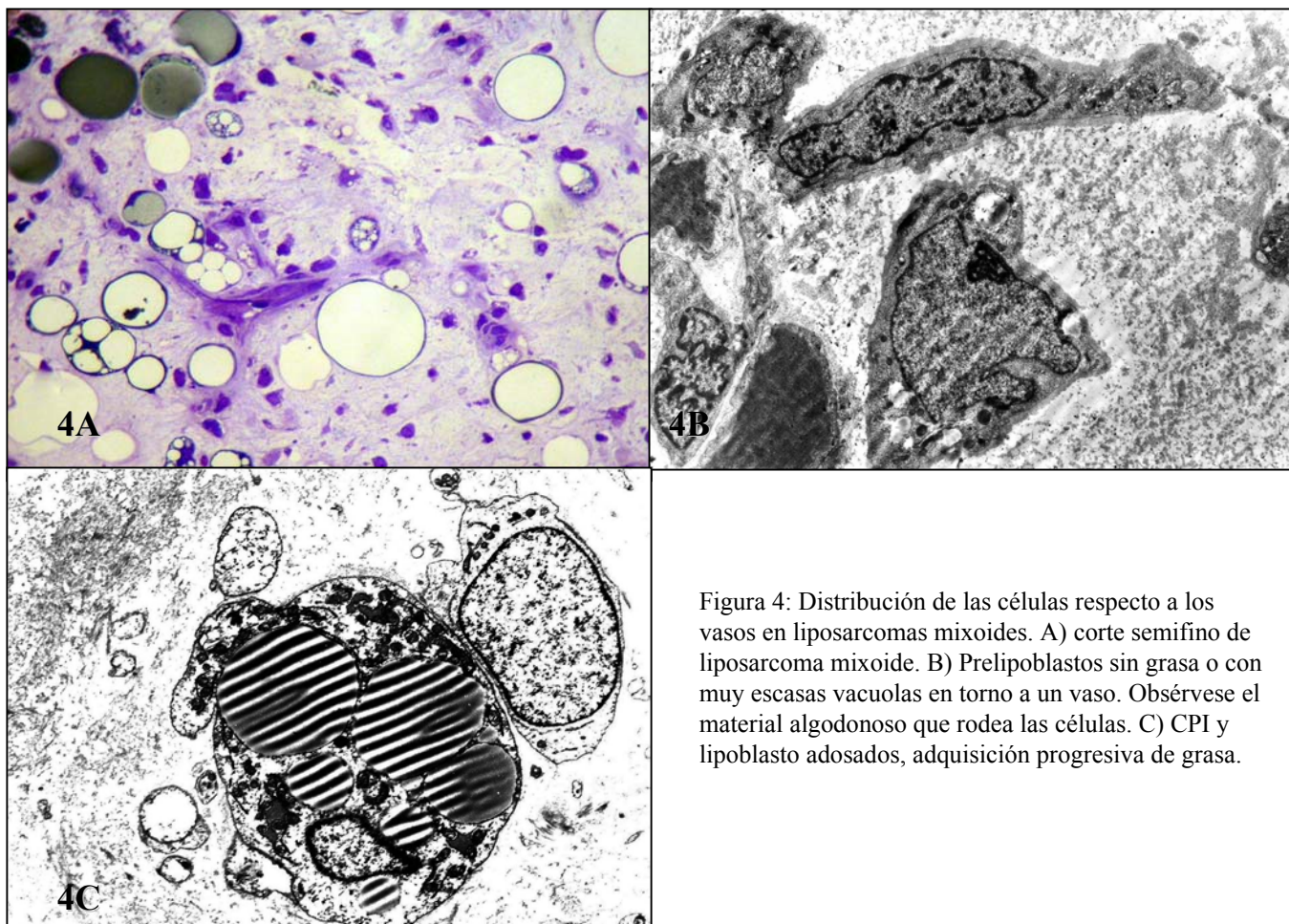


Figura 4: Distribución de las células respecto a los vasos en liposarcomas mixoides. A) corte semifino de liposarcoma mixoide. B) Prelipoblastos sin grasa o con muy escasas vacuolas en torno a un vaso. Obsérvese el material algodonoso que rodea las células. C) CPI y lipoblasto adosados, adquisición progresiva de grasa.

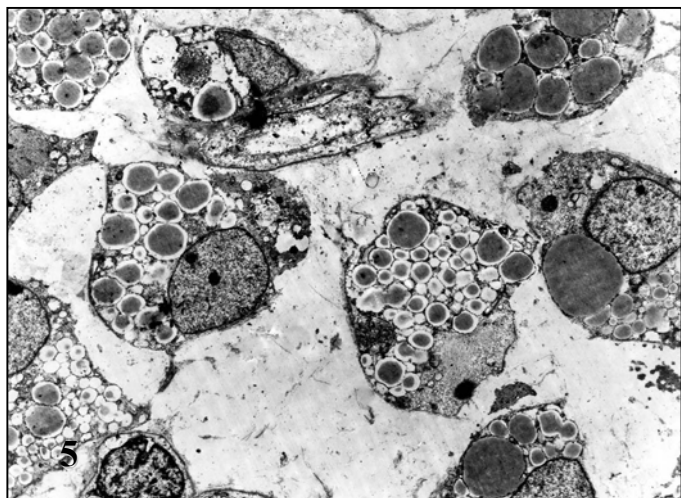


Figura 5: Imagen diagnóstica del liposarcoma mixoide en la que se observan varios lipoblastos aislados, con abundantes gotas de grasa citoplasmática

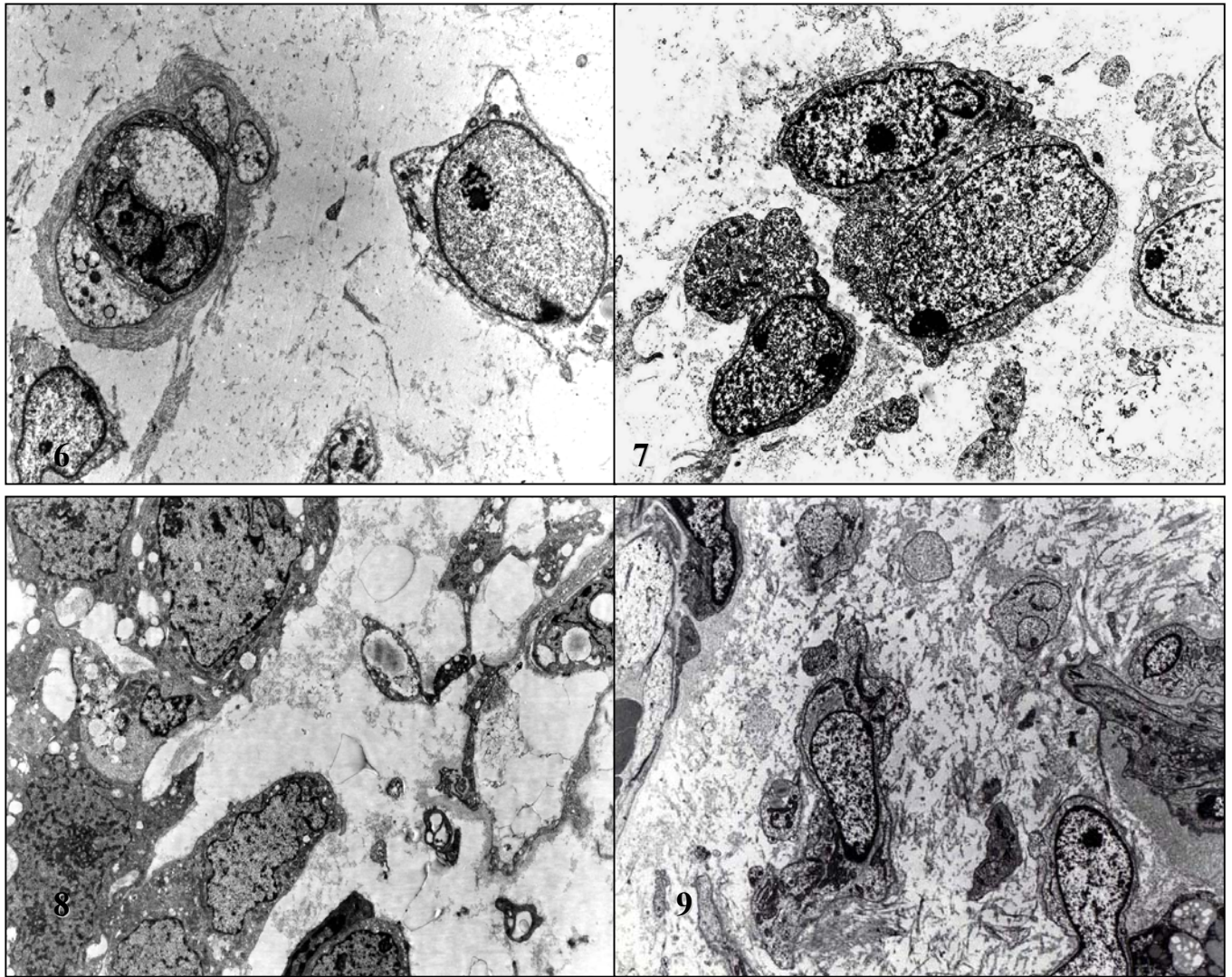


Figura 6: Distribución perivascular de una CPI y de un prelipoblasto.

Figura 7: Disposición en pequeñas trabéculas de las CPI.

Figura 8: Disposición en pequeñas trabéculas de los prelipoblastos.

Figura 9: Distribución de las células en relación con el vaso: las más cercanas son CPI sin grasa y prelipoblastos con escasas gotas de grasa, mientras que más alejadas del vaso se pueden observar células que contienen mayor cantidad de gotas de grasa.

TUMORES FIBROBLÁSTICOS/MIOFIBROBLÁSTICOS

Este grupo se incluyeron 16 casos: 1 fascitis nodular, 1 miofibroblastoma, 1 fibroblastoma desmoplásico, 13 mixofibrosarcomas y 2 sarcomas fibromixoides de bajo grado. Las características clínicas de este grupo se resumen en las tablas 14, 15 y 16 .

FASCITIS NODULAR

El caso incluido correspondía a un hombre de 59 años. Se localizaba en las partes blandas del hombro y medía 3,6 cms. de diámetro mayor. Se excluyeron otros dos casos de fascitis nodular y una fibromatosis, porque no se encontraron zonas de matriz mixoide.

Presentaba las características histológicas típicas de la entidad, con zonas de abundante matriz mixoide.

En el estudio ultraestructural se observaba una proliferación de miofibroblastos bien diferenciados, en el seno de una abundante matriz mixoide, sin que se observaran células en otros estadios madurativos, ni una distribución peculiar respecto a los vasos capilares (Tabla 19)

MIOFIBROBLASTOMA DE TIPO MAMARIO

Este caso correspondía a una lesión localizada en mama de 3 cms. de diámetro mayor en un hombre de 57 años de edad.

Presentaba las características histológicas típicas de la entidad.

En el estudio ultraestructural se observaba una proliferación de células estrelladas con prolongaciones largas y uniones intercelulares que, en el citoplasma, presentaban filamentos finos con cuerpos densos característicos de miofibroblastos (tabla 19).

FIBROBLASTOMA DESMOPLÁSICO

Este caso correspondía a una lesión localizada en las partes blandas de la región pósterio-cervical y base del cráneo de un varón de 13 años. Medía 7 cms. de diámetro mayor.

Histológicamente se trataba de una proliferación de células estrelladas en el seno de una matriz predominantemente hialinizada con focos de aspecto mixoide, en la que no se observaron vasos.

En el estudio ultraestructural se observó una proliferación de miofibroblastos y células indeterminadas que se disponían formando pequeñas trabéculas de 2 ó 3 células alejadas de vasos (tabla 19) (figura 10).

MIXOFIBROSARCOMA

Hemos estudiado 13 casos de mixofibrosarcoma. La edad de presentación, sexo, localización y tamaño de estos tumores se presentan en la tabla 15. Se trataba de 10 varones y 3 mujeres de edades comprendidas entre los 29 y 78 años; de diez casos en los que se conoce la localización exacta 5 eran en las extremidades. El de mayor tamaño era un tumor retroperitoneal de 27 cm.

Características anatomopatológicas

De los once casos en los que fue posible la revisión del material histológico, seis correspondían a tumores de bajo grado (grados I y II de Angervall⁶⁰) y cuatro a tumores de alto grado (tabla 15), tal y como los describen Mentzel et al⁶¹: los tumores de bajo grado son hipocelulares y generalmente fusocelulares predominantemente mixoides mientras que los de alto grado son más pleomórficos, presentan más células gigantes multinucleadas, mayor índice mitótico y necrosis. Tanto en los casos de alto grado

como en los de bajo grado se observaron los característicos vasos capilares finos y curvilíneos y se observaron ocasionales vacuolas citoplasmáticas en las células neoplásicas (seudolipoblastos) (figura 11).

En dos casos, no se pudo constatar el grado histológico sobre preparaciones histológicas ya que procedían de otros centros (Alcalá de Henares, Gandía) que sólo nos proporcionaron el informe histopatológico en el que no constaba el grado histológico del tumor. En los cortes semifinos las células incluidas en estos casos tenían una atipia correspondiente a la de tumores de bajo grado.

Características ultraestructurales

El resumen de los hallazgos ultraestructurales se encuentra en la tabla 20. La célula diagnóstica con signos de diferenciación reconocibles era el fibroblasto o el miofibroblasto en 10 de los 13 casos, en distintas proporciones. Uno de ellos mostraba frecuentemente células con el citoplasma ocupado por filamentos finos con cuerpos densos, las células se ordenaban en haces paralelos, lo que sugería transformación hacia músculo liso. En 7 casos se encontraron alrededor de los vasos trabéculas de células de tipo CPI (figuras 13 a 15). Se trataba de células poligonales con moderada relación núcleo-citoplásmica; estos elementos mostraban pocas diferenciaciones de superficie reducidas a escasas microvellosidades de tipo inespecífico y ocasionales uniones de tipo primitivo; los citoplasmas no presentaban características específicas, sólo ocasionalmente tenían un moderado desarrollo del RER. Estas células no eran reconocibles como elementos aislados, sólo cuando adoptaban su disposición característica en trabéculas (figura 16). Son distintas a pericitos que se localizan adosados a los capilares y muestran características de diferenciación muscular lisa (vesículas de pinocitosis y presencia de filamentos finos con cuerpos densos

citoplasmáticos) (figura 13). En tres casos constituían una parte importante de la población neoplásica y en dos el único patrón ultraestructural reconocible en las zonas que se muestrearon. Estos dos casos (casos 2 y 5) correspondían a tumores de bajo grado en la microscopía óptica.

Un caso que en la microscopía óptica cumplía criterios de mixofibrosarcoma de alto grado mostró en el estudio ultraestructural exclusivamente células mesenquimales sin rasgos específicos (caso 7). Un caso (caso 50) presentaba, además de algún miofibroblasto, células indiferenciadas inespecíficas con mayor pleomorfismo. Este tumor correspondía a un mixofibrosarcoma de alto grado.

En varios casos se observaba una imagen de células con prolongaciones finas y una condensación de matriz intercelular en la superficie celular sin que se observara membrana basal (figuras 17 y 18).

En un caso (caso 51) se observó una luz intracelular, que se trata de un hallazgo inespecífico pero muy infrecuente (figura 19).

SARCOMAS FIBROMIXOIDES DE BAJO GRADO (FIBROSARCOMA MIXOIDE)

Hemos estudiado 2 casos de sarcoma fibromixoide de bajo grado, según los criterios histológicos de la literatura^{55, 62}. Sus características clínicas aparecen reflejadas en la tabla 16. Se dieron en edades avanzadas y en localización profunda (mediastino y retroperitoneo).

Por definición histológica se trata de tumores de bajo grado. Se trata de neoplasias en las que se mezclaban de forma heterogénea y con transición brusca, zonas de aspecto mixoide y zonas de tejido fibroso, ambas hipocelulares y las células presentaban muy poca atipia y escasas mitosis (figura 12). En nuestro estudio no se realizaron técnicas

inmunohistoquímica puesto que no ofrecían problemas de diagnóstico diferencial con otras neoplasias mixoides (tabla 18).

Los hallazgos ultraestructurales se resumen en la tabla 21. Las células neoplásicas con mayor grado de diferenciación fueron: en un caso el fibroblasto y en el otro el miofibroblastos. En este último caso, se encontraron células perivasculares indeterminadas similares a las descritas en los casos de mixofibrosarcoma formando trabéculas cercanas a capilares sanguíneos (figura 20A y figura 20B).

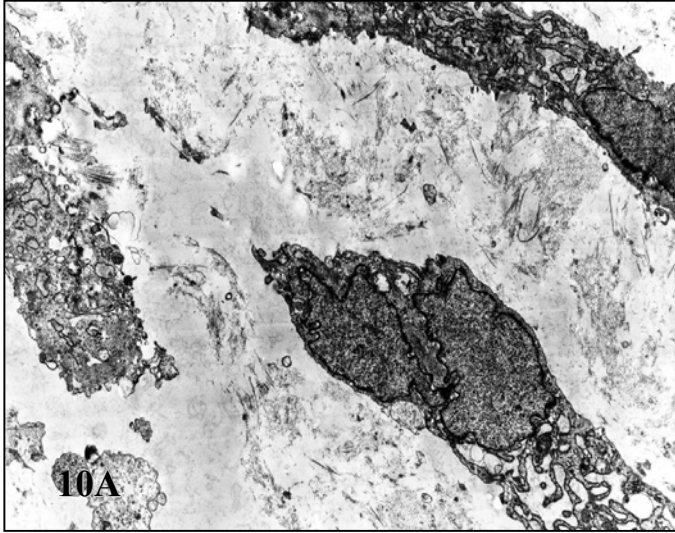


Figura 10: Fibroblastoma desmoplásico. A) Células indeterminadas con cisternas de RER dilatadas.

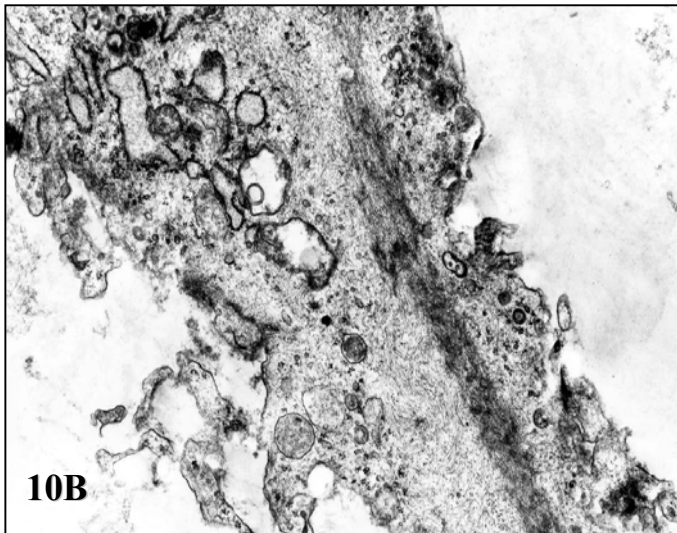


Figura 10: Fibroblastoma desmoplásico. B) Diferenciación miofibroblástica, filamentos finos con cuerpos densos citoplasmáticos.

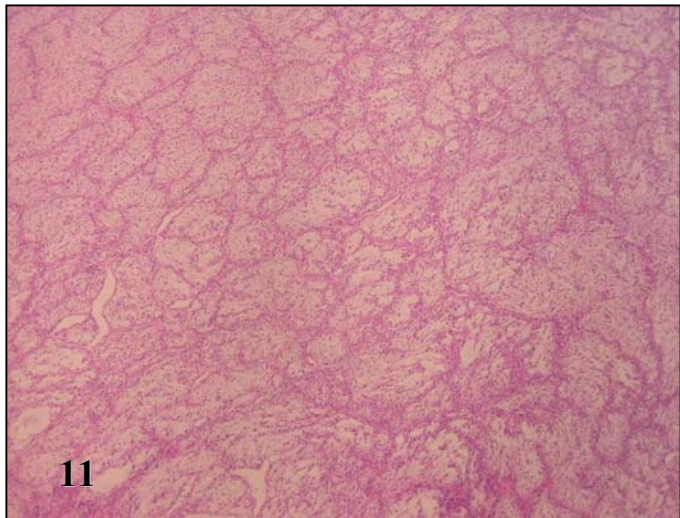


Figura 11: patrón típico del mixofibrosarcoma de bajo grado, con los característicos vasos curvilíneos y el abundante estroma mixoide.

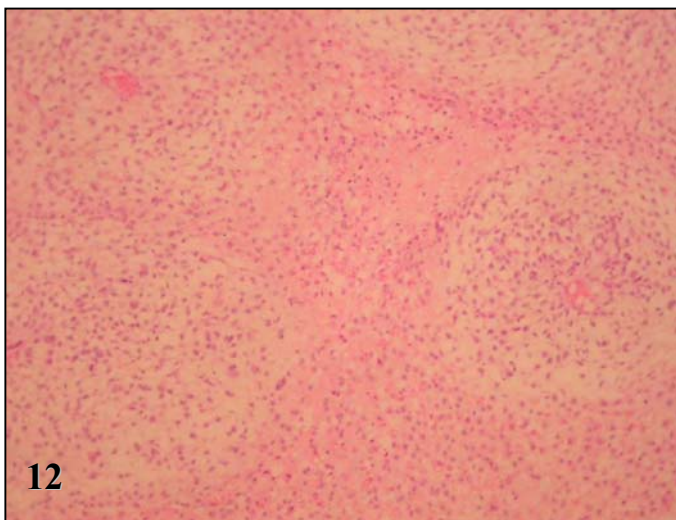


Figura 12: Sarcoma fibromixioide de bajo grado, con menor atipia que el mixofibrosarcoma y con la característica mezcla de zonas mixoides y zonas colagenizadas.

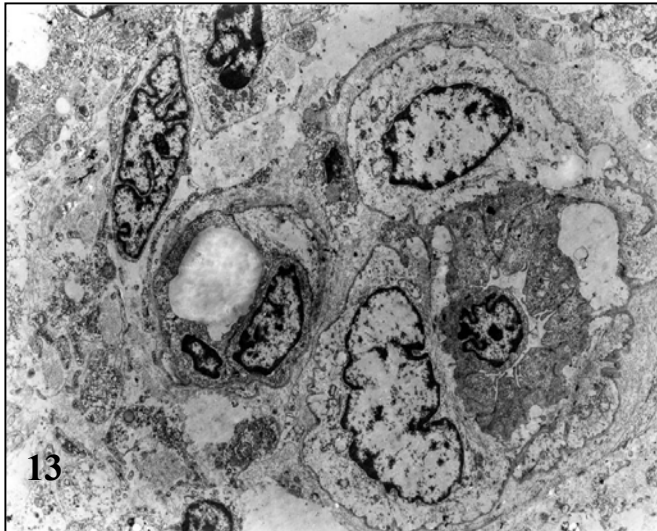


Figura 13: Disposición perivascular de células indeterminadas. Compárense con los pericitos que rodean uno de los capilares.

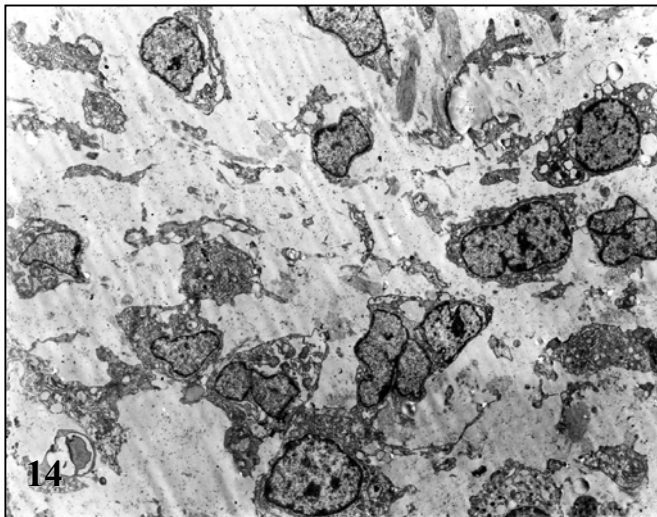


Figura 14: Distribución espacial en panorámica de las CPIs en un mixofibrosarcoma, a veces formando pequeñas trabéculas y a veces sueltas.

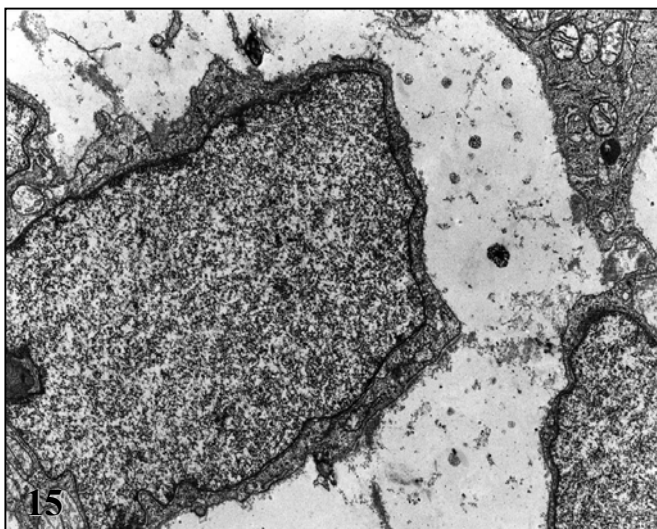


Figura 15: Detalle de una CPI, obsérvese la insecificidad y la casi ausencia de citoplasma y organelas citoplasmáticas y el núcleo con cromatina fina y un pequeño nucleolo.

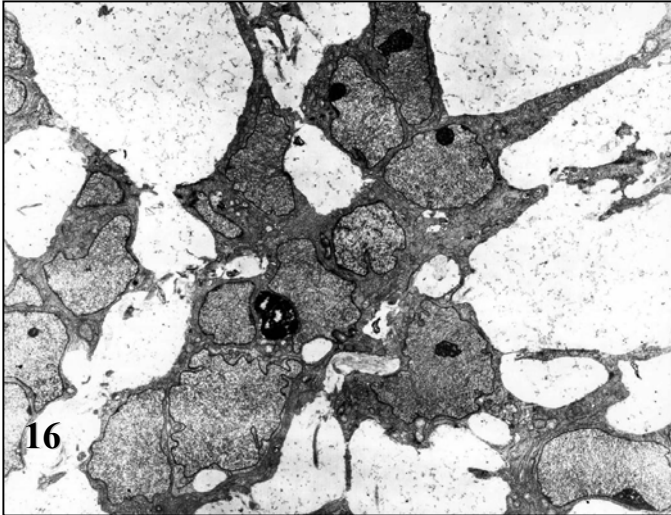


Figura 16: Típica trabécula de CPIs, donde se aprecia que se trata de células con escasas organelas citoplasmáticas, núcleos inespecíficos y sin uniones intercelulare relvantes.

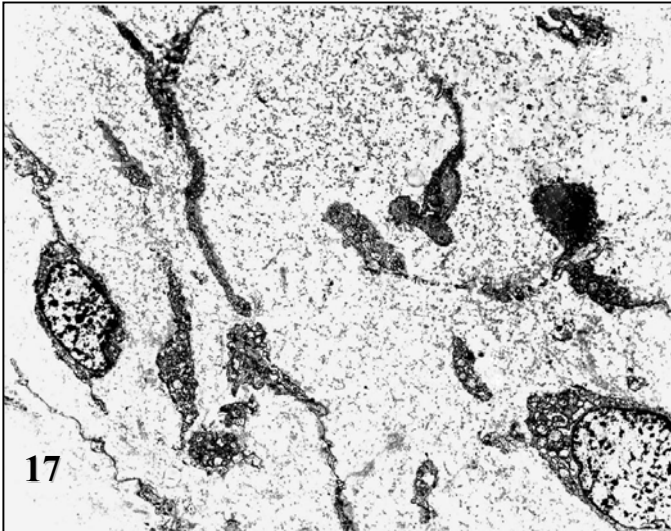


Figura 17: Imagen ultraestructural de mixofibrosarcoma: células con escasos rasgos de diferenciación y en torno a las cuales se observa un material algodonoso que no corresponde a material de membrana basal.

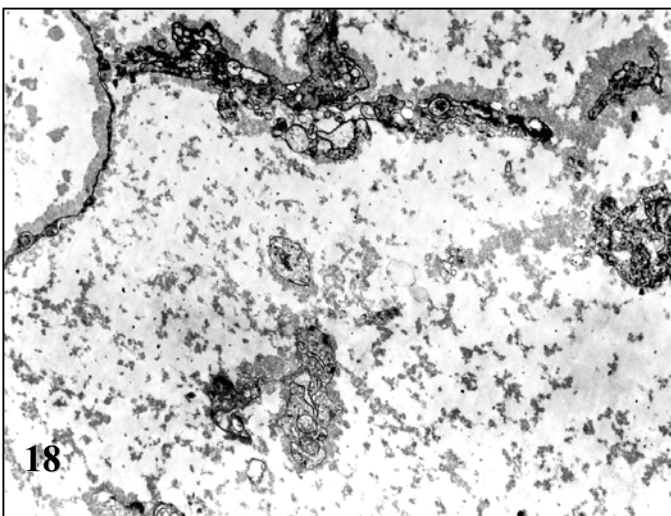


Figura 18: Detalle del material algodonosopericelular en mixofibrosarcoma.

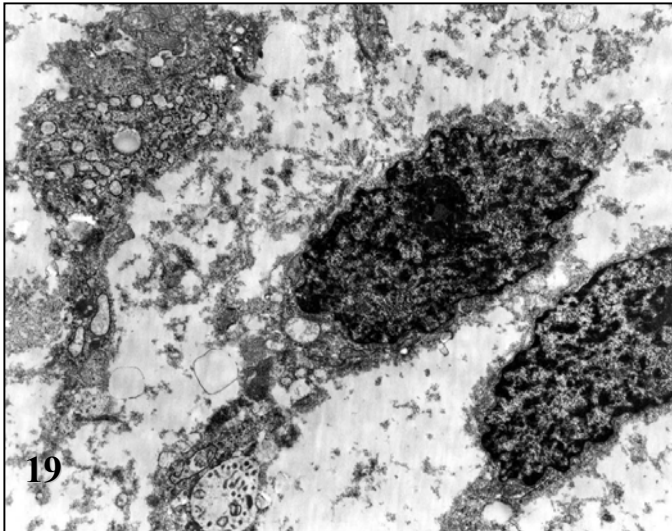


Figura 19: Presencia de una luz intracelular con microvellosidades en una célula de un mixofibrosarcoma

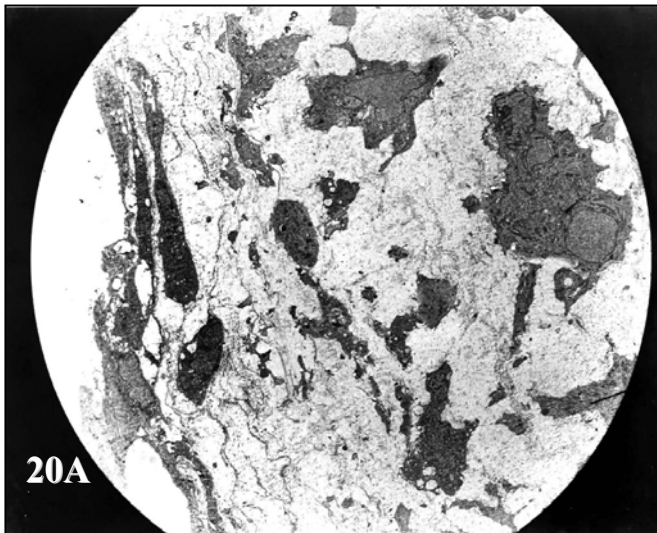


Figura 20A: panorámica ultraestructural de un sarcoma fibromixioide de bajo grado, en al que se observa la distribución de las células respecto a los vasos, se pueden observar CPIs en pequeñas trabéculas cerca de los mismos y células aisladas más lejos.

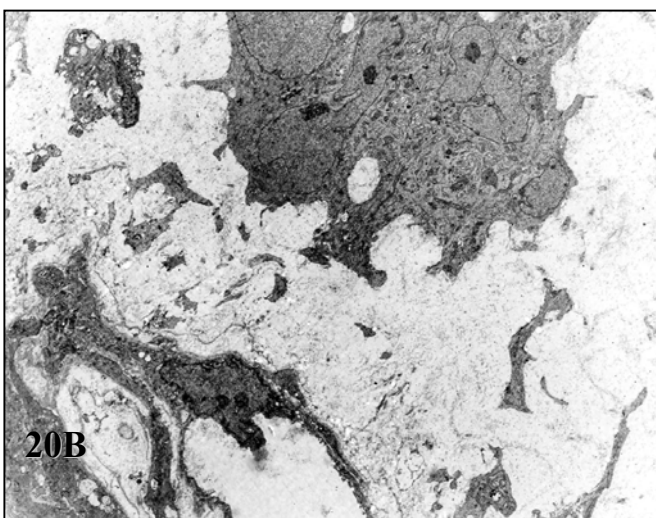


Figura 20B: Sarcoma fibromixioide de bajo grado. Acercamiento de la imagen anterior, en el que se observan con más detalle las trabéculas de CPIs en la proximidad de un vaso.

TUMORES DE MÚSCULO LISO

En este grupo se incluyeron tres casos: 1 angioleiomioma con zonas de degeneración mixoide (caso 1), un leiomioma mixoide (caso 20) y un leiomiosarcoma uterino mixoide (caso 47).

Sus características clínicas se resumen en la tabla 22.

Histológicamente, el angioleiomioma estaba constituido por células fusiformes dispuestas en haces entrecruzados con abundante vascularización (de luces dilatadas y paredes engrosadas). Se observaban zonas pequeñas de degeneración hialina y mixoide de las que se tomaron las muestras para el estudio ultraestructural. Las células presentaban núcleos ovalados sin atipia. Los vasos presentaban pequeños trombos y eosinófilos.

El leiomioma presentaba una histología inespecífica con abundante matriz mixoide en cuyo seno se encontraban abundantes células estrelladas pleomórficas sin mitosis.

El leiomiosarcoma presentaba un patrón lobulado, con abundante matriz mixoide en la que se encontraban abundantes células fusiformes en fascículos. Se observaron imágenes de invasión vascular.

Ultraestructuralmente, en el angioleiomioma se observaron células con diferenciación clara a músculo liso (pinocitosis, presencia de lámina externa y filamentos finos con cuerpos densos en el citoplasma) (figura 21). Las células no se agrupaban en trabéculas ni tenían ninguna distribución específica respecto a los vasos. El leiomioma estaba constituido por células con abundantes vacuolas y filamentos finos con cuerpos densos en el citoplasma. Se observaron signos incipientes de diferenciación muscular lisa. El leiomiosarcoma estaba mal conservado pero se podía apreciar la abundante matriz mixoide y la distribución paralela de las células que sugiere

diferenciación a músculo liso. Las características ultraestructurales se resumen en la tabla 23.

TUMORES DE MÚSCULO ESTRIADO

En este grupo se incluyeron 10 casos: 2 rabdomiomas y 8 rabdomiosarcomas (6 embrionarios, uno pleomórfico y otro alveolar de tipo mixto (alveolar y embrionario)). Sus características clínicas se resumen en las tablas 24 y 25. Entre los rabdomiosarcomas se observa un predominio de varones, la edad media es de 18,25 años (rango de 2 a 57). La localización más frecuente fue la región vesical (4/8 casos, 50%).

Histológicamente los rabdomiomas correspondían a dos rabdomiomas extracardíacos: un rabdomioma de tipo fetal intermedio (figura 22A) y un rabdomioma de tipo genital (de localización vaginal) y el otro localizado en la mejilla. En ambos casos, se observó una proliferación de células indiferenciadas de citoplasma amplio y eosinófilo en el seno de una matriz mixoide (más abundante en el caso genital que en el fetal intermedio, en el que las células son más poligonales). No se observaron estriaciones.

Los rabdomiosarcomas correspondían en su mayor parte a rabdomiosarcomas de tipo embrionario (botrioides) (6/8 casos: 75%), es decir, proliferaciones de células redondas y pequeñas que reproducen el desarrollo rabdomioblástico embrionario (células indiferenciadas y rabdomioblastos más diferenciados en una matriz más o menos mixoide) y que se distribuyen de forma característica respecto a la mucosa (zona de cambium y mayor densidad celular por debajo de la misma). Los dos casos que se dan en adultos, corresponden a un rabdomiosarcoma de tipo mixto (alveolar y embrionario) y el otro a un rabdomiosarcoma pleomórfico (figura 22C). Se realizó estudio inmunohistoquímico en estos dos casos de rabdomiosarcoma (figura 22C, detalle) con las que se demostró un inmunofenotipo muscular estriado (positividad para actina muscular común, desmina y mioglobina y negatividad para actina muscular lisa).

Características ultraestructurales (tablas 26 y 27)

Tanto los rabdomiomas como los rabdomiosarcomas estaban constituidos por rabdomioblastos, es decir, células con diferenciación rabdomioblástica más o menos madura. En los rabdomiomas las células mostraban sarcómeros ordenados con formación de bandas Z, H, A, I (figura 22B).

En tres casos de rabdomiosarcoma, los rabdomioblastos tenían escasos rasgos de diferenciación muscular estriada (en dos de ellos no se observaron bandas Z, sino sólo alternancia de filamentos finos y gruesos, ordenados respecto a los ribosomas y en otro sólo se observaron esbozos de bandas Z) (figura 22D). En cuatro casos se asociaban a células perivasculares indeterminadas (50%). En estos cuatro casos se observó un patrón de distribución de las células en torno a vasos, en pequeñas trabéculas (figuras 23 y 24). Focalmente se observaron células con características intermedias entre las CPI y los rabdomioblastos (figura 25).



Figura 21: imagen ultraestructural de angioleiomioma en la que se aprecia la diferenciación muscular lisa como filamentos finos intracitoplasmáticos con cuerpos densos, ordenación en paralelo de las células y vesículas de pinocitosis.

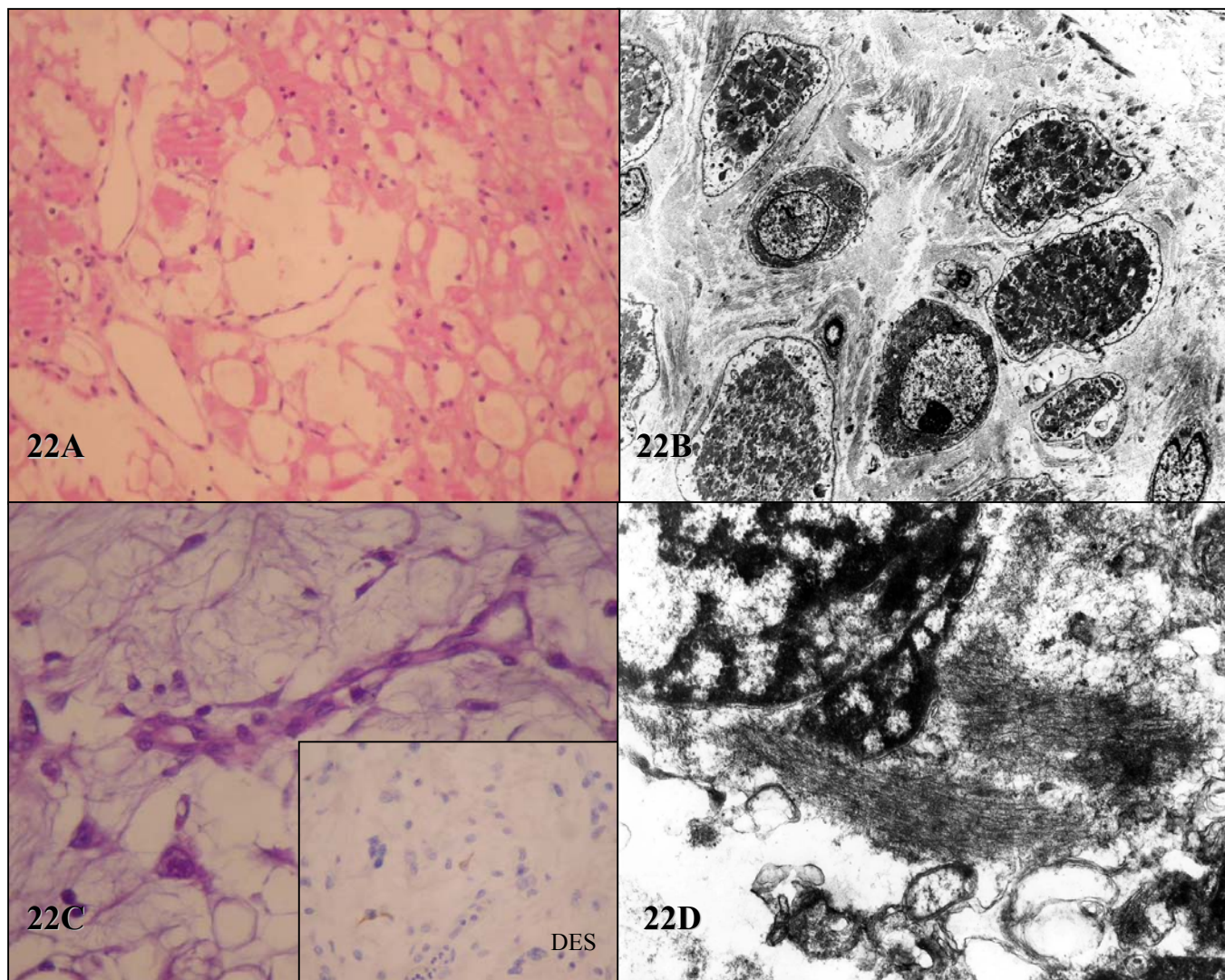


Figura 22A: imagen histológica de rabdomioma. B: imagen ultraestructural de rabdomioma, con diferenciación completa muscular esquelética. C: imagen histológica de rabdomiosarcoma pleomórfico (detalle: positividad inmunohistoquímica para desmina). D: imagen ultraestructural de rabdomiosarcoma pleomórfico, en la que se aprecian filamentos finos asociados a filamentos gruesos y esbozos de bandas Z.

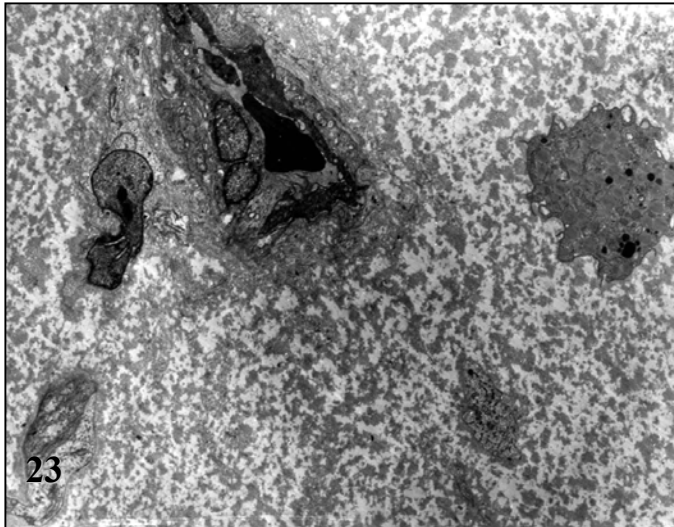


Figura 23: rhabdomiosarcoma embrionario, en el que se observan células indeterminadas con algunas gotas de glucógeno intracitoplasmático alrededor de un vaso.

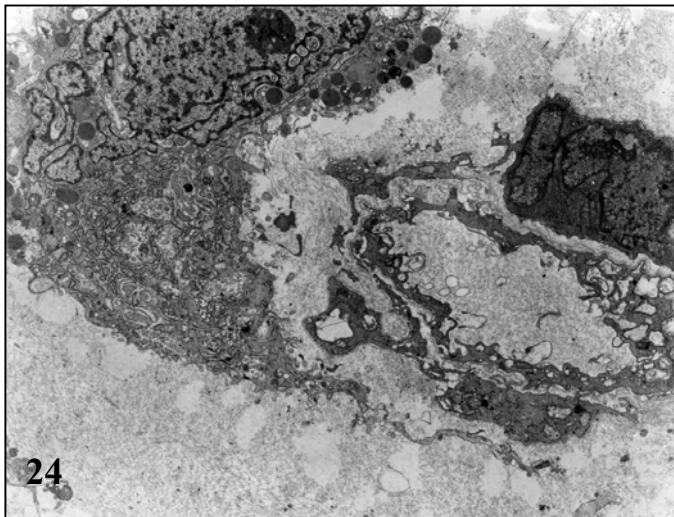


Figura 24: Rabdomiosarcoma embrionario. Alrededor de un vaso se observa una célula indeterminada de pequeño tamaño y una célula de mayor tamaño con más citoplasma que contiene gotas de glucógeno y cisternas de RER dilatadas.

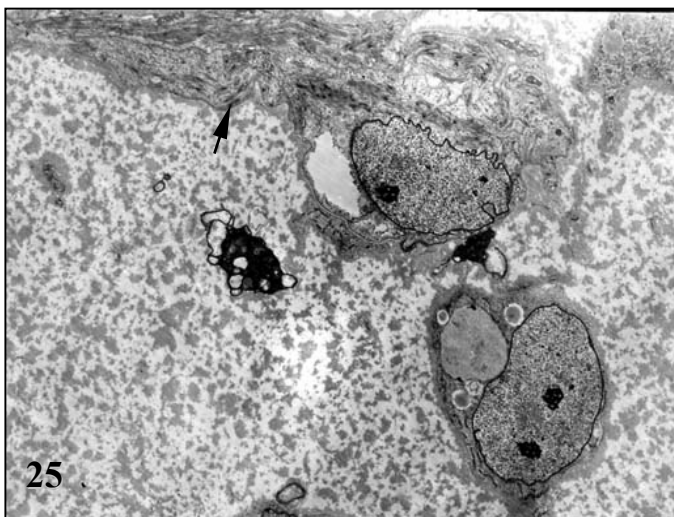


Figura 25: Rabdomiosarcoma embrionario. Progresión en la diferenciación en zonas alejadas de vasos. Se observa una célula que contiene glucógeno intracitoplasmático y una célula con filamentos finos y gruesos y esbozos de bandas Z intracitoplasmáticos (flecha).

TUMORES CONDRALES

Las tablas 28 a 30 muestran las características clínicas de los tumores que incluidos con diferenciación condral. En este apartado se incluyeron un condrosarcoma esquelético con degeneración mixoide y un condroma de partes blandas.

La tabla 31 muestra los principales hallazgos ultraestructurales. El condrosarcoma esquelético y el condroma de partes blandas presentaban más o menos rasgos de diferenciación condral, es decir, matriz condral con haces finos de fibrillas de colágeno de distribución irregular y abundante sustancia amorfa hipodensa rodeando a las células.

Éstas también presentaban rasgos condroblásticos: núcleo multilobulado irregular con membrana nuclear prominente, microvellosidades superficiales, abundante RER con mitocondrias, múltiples complejos de Golgi, filamentos intermedios difusos y ocasionales grupos de partículas de glucógeno y vacuolas grasas aisladas.

TUMORES DE DIFERENCIACIÓN INCIERTA

En este grupo se incluyeron 19 casos: dos condrosarcomas mixoides extraesqueléticos (CSME), dos paracordomas, 2 tumores fibromixoides osificantes, 4 mixomas cardíacos, 4 mixomas yuxta-articulares y 4 angiomixomas: 2 superficiales cutáneos y 2 agresivos. Sus características clínicas se resumen en las tablas 31 a 36.

Para su estudio los hemos dividido en dos grupos: uno de ellos constituido por los mixomas y tumores fibromixoides osificantes; y otro constituido por los condrosarcomas y paracordomas.

MIXOMAS Y TUMOR FIBROMIXOIDE OSIFICANTE

Este grupo lo constituyen un total de 14 casos: 2 tumores fibromixoides osificantes (uno de ellos atípico), 4 mixomas cardíacos, 4 mixomas yuxta-articulares y 4 angiomixomas: 2 superficiales cutáneos y 2 agresivos.

Los 4 mixomas cardíacos se presentaron en mujeres de edad media 68 años y con un tamaño medio de 6 cms. constituyendo una serie homogénea. Las historias clínicas de estas pacientes no reflejaban antecedentes familiares.

En el caso de los mixomas yuxta-articulares no se observa predominio de ninguno de los sexos (2:2), la edad media de presentación fue de 54 años con un gran índice de dispersión (rango 19-86). Dos de estos casos aparecen en localizaciones poco habituales: tendón de Aquiles y raíz de muslo.

Los dos angiomixomas superficiales no muestran ninguna tendencia, ni por sexo, ni por edad ni por tamaño.

Los dos angiomixomas agresivos mostraban características clínicas típicas de la entidad: mujeres en edad fértil en localización vulvar y de tamaño variable.

Características microscópicas

Los mixomas yuxtaarticulares presentaban las características típicas de la entidad (histología superponible a la del mixoma intramuscular), es decir, se trata de tumores hipocelulares con abundante matriz mixoide en las que se observaron escasas células estrelladas o fusiformes sin atipia. Ocasionalmente se observaron zonas de hemorragia e inflamación inespecífica y formaciones pseudoquísticas como las que se observan en los gangliones.

Los mixomas cardíacos estaban constituidos por células redondas o estrelladas indiferenciadas (mesenquimales primitivas) que a veces, formaban cordones y luces pseudovasculares. La matriz era abundante, mixoide inespecífica con focos de hemorragia e inflamación inespecífica.

Los angiomixomas agresivos de la serie también se ajustaron a las características típicas de la entidad, se trataba tumores mal delimitados constituidos por una abundante matriz mixoide con escasos haces de colágeno que contenía un número variable de vasos de distinto calibre con paredes gruesas, endotelios prominentes y frecuentemente hialinizados. Las células de la matriz eran fusocelulares o estrelladas y no mostraban atipia.

Los angiomixomas superficiales eran tumores con abundantes vasos de pequeño calibre y células sin atipia en una matriz mixoide. En nuestro casos no se observaron elementos epiteliales.

De los dos tumores fibromixoides osificantes, ambos presentaban las características diagnósticas de la entidad: células fusiformes a estrelladas sin atipia que, a veces, formaban trabéculas en el seno de una matriz mixoide inespecífica y distribuidas en lóbulos separados por tractos fibrosos. Los tumores estaban bien delimitados por una cápsula fibrosa densa con metaplasia ósea. Uno de los tumores

presentó una recidiva en la que se observaron zonas más celulares y con atipia moderada (tumor fibromixoide osificante atípico).

Características ultraestructurales

Las características ultraestructurales de todos estos tumores se resumen en las tablas 37 y 38.

En cuanto a los mixomas cardíacos, podemos observar que presentaban un patrón ultraestructural constante y único, por lo tanto, diagnóstico. Estaban constituidos casi exclusivamente por células redondas o estrelladas indiferenciadas (células lepidicas) y vasos, inmersos en abundante matriz mixoide inespecífica.

En la mayoría de las muestras estudiadas (3/4, 75%) las células lepidicas se distribuyen en pequeñas trabéculas, a veces, con uniones rudimentarias, que forman seudoluces vasculares (figura 26).

En nuestros casos, no se observaba diferenciación hacia fibroblastos, miofibroblastos, endotelio, ni músculo liso.

Los mixomas yuxta-articulares estaban constituidos predominantemente por fibroblastos inmaduros en una matriz mixocolágena inespecífica. No se observó lámina externa y muy pocas uniones de prolongaciones. Los citoplasmas eran escasos con pocas prolongaciones (figura 27). También se observaron fibroblastos y miofibroblastos más diferenciados.

Sólo se observó patrón de distribución trabecular perivascular en un caso, debido a la dificultad de encontrar vasos en estos tumores (figura 28).

Los angiomixomas superficiales estaban constituidos por capilares sin características relevantes, miofibroblastos y fibroblastos sin que las células se distribuyeran de formar particular en torno a los vasos.

Sin embargo, en los angiomixomas agresivos, las células sí presentaban relación con los vasos que mostraban endotelios hinchados (capilares de tipo embrionario) y focalmente se observó diferenciación hacia músculo liso (figura 29), además de la diferenciación miofibroblástica. Las células más cercanas a los vasos tenían menor grado de diferenciación, a veces se observaban en esta localización CPI en pequeñas trabéculas (figuras 30 y 31).

Los tumores fibromixoides osificantes estaban constituidos por miofibroblastos en distintos estadios madurativos. En uno de ellos se observaban trabéculas de células menos diferenciadas en torno a los vasos (figura 32).

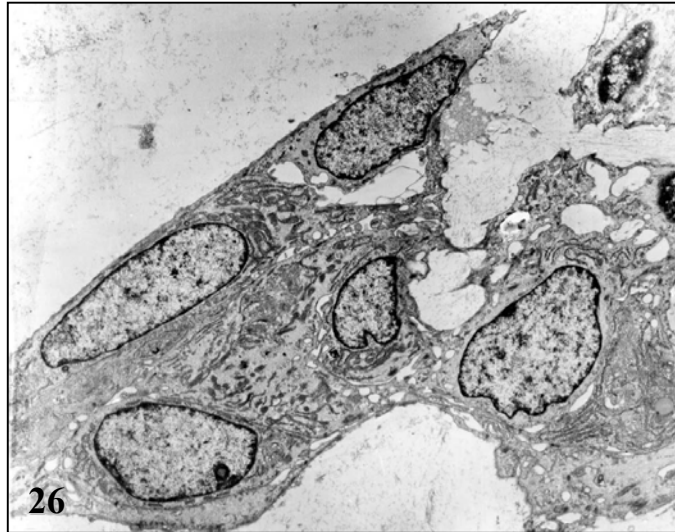


Figura 26: Mixoma cardíaco. Células indiferenciadas formando una pared pseudovascular. En otras zonas de la misma tumoración las células eran más redondeadas.

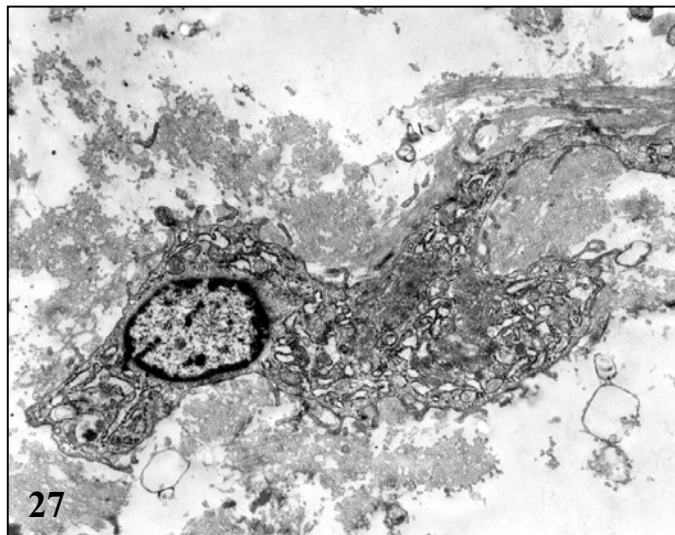


Figura 27: Mixoma yuxta-articular. Célula con rasgos de diferenciación fibroblástica incompletos. Obsérvese la gran cantidad de cisternas de RER dilatadas.

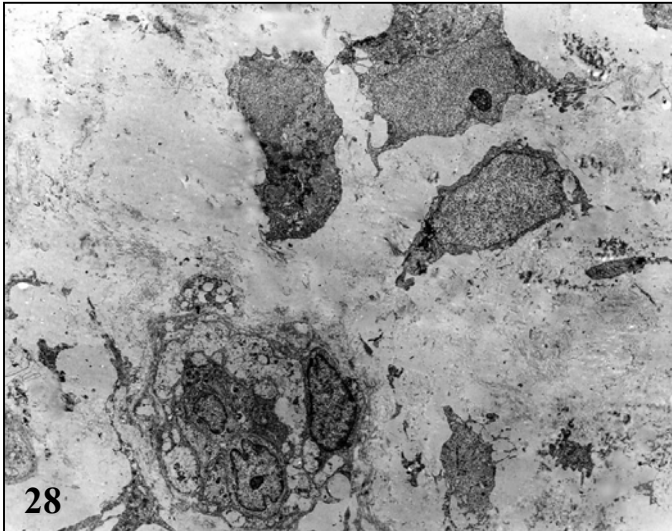


Figura 28: Mixoma yuxta-articular. Obsérvense varias células de tipo CPI en la cercanía de una estructura vascular.

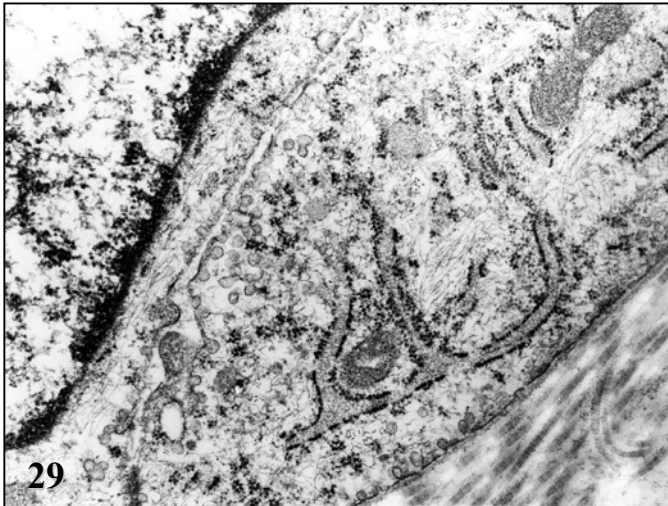


Figura 29: Angiomixoma agresivo. Detalle celular en el que se observan signos de diferenciación muscular lisa. Presencia de filamentos finos intracitoplasmáticos y abundantes vesículas de pinocitosis.

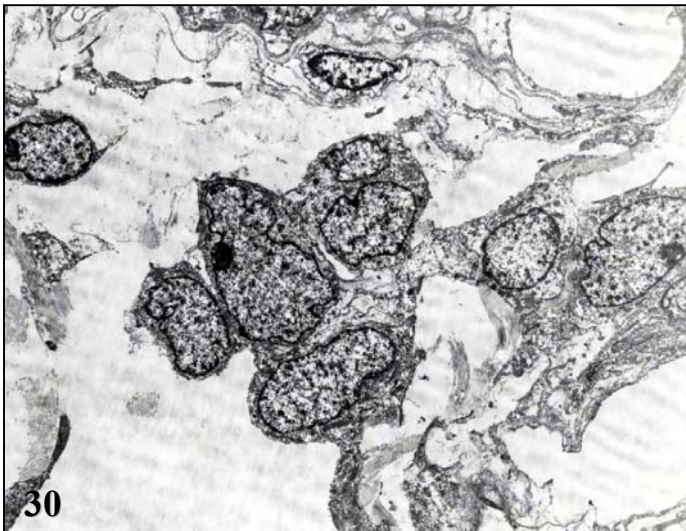


Figura 30: Angiomixoma agresivo. Presencia de CPI agrupadas en una trabécula.

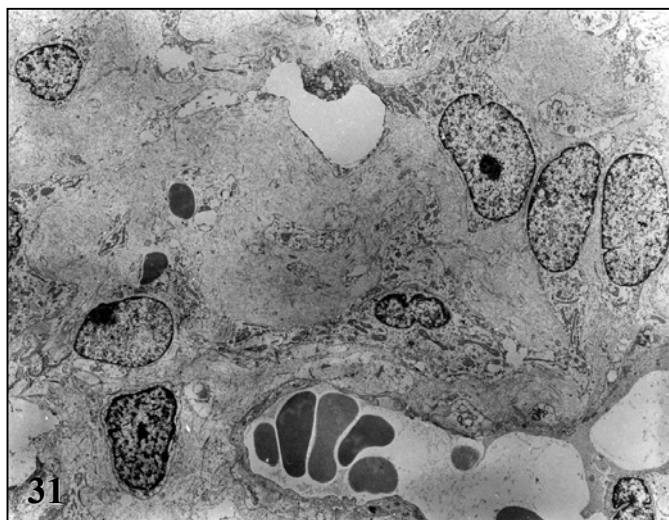


Figura 31: Angiomixoma agresivo. Grupos de CPI alrededor de un vaso en pequeños grupos.

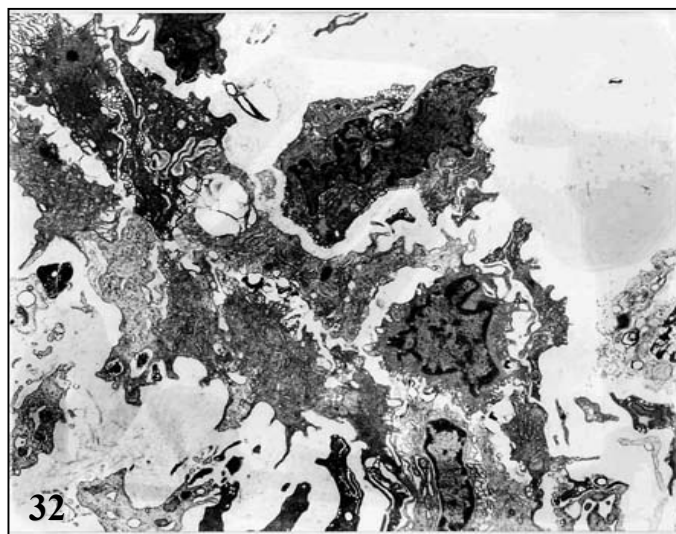


Figura 32: Tumor fibromixoide osificante. Grupos de células con rasgos incompletos de diferenciación miofibroblástica incompleta.

CONDROSARCOMAS MIXOIDES EXTRAESQUELÉTICOS Y PARACORDOMAS

Características microscópicas

Los condrosarcomas mixoides eran tumores de patrón lobulado, en los que característicamente la periferia de los lóbulos era más celular que el centro (figuras 33A y 33B). Las células eran pequeñas con escaso citoplasma con muy leve atipia nuclear y forman hileras o pequeñas trabéculas (figuras 34A y 34B). En nuestros casos las zonas hipercelulares fueron irrelevantes. Uno de los casos (caso 48) presentaba las características histológicas típicas de la entidad a pesar de presentarse en una localización atípica no descrita en la literatura (calota).

Los paracordomas tienen un patrón histológico muy parecido y remedan los cordomas de localización central, dada su positividad inmunohistoquímica para marcadores epiteliales, pero no se observaron en ellos células fisalíferas (figuras 33C y 34C).

Características ultraestructurales (tabla 39)

En resumen la célula proliferante en el condrosarcoma mixoide era la CPI, observándose ocasionalmente alguna célula con algún rasgo de diferenciación fibroblástica sutil (mayor cantidad de RER y aparato de Golgi). Los dos casos de paracordoma presentaban un aspecto similar aunque en uno de ellos, la práctica totalidad de las áreas estudiadas correspondían a CPI (figura 38). En un condrosarcoma y dos paracordomas es llamativa la presencia de túbulos en el interior de cisternas dilatadas de RER (figuras 35 y 36).

CORDOMAS

La tabla 40 resume las características clínicas de los 7 casos de cordoma incluidos en este estudio. No existe predominio de ninguno de los sexos, la edad media es de 57 años, se incluyó un caso excepcional en una niña de 11 años. La localización es la clásica descrita en la literatura (línea media de la base craneal (clivus) y sacro). Se observó infiltración de los tejidos adyacentes en dos casos (nasofaringe y cuello) y en un caso excepcional de localización en el peñasco izquierdo en el que se realizó diagnóstico diferencial con otros tumores mixoides en esta localización como el condrosarcoma mixoide intracraneal (esquelético y extraesquelético).

Las características histológicas eran en todos los casos las típicas de la entidad (figura 33D). Se trataba de tumores mal delimitados con abundante matriz mixoide, de patrón lobulado focalmente y que estaban constituidos por células con escasa atipia nuclear de citoplasmas eosinófilos bien delimitados, formando trabéculas e hileras semejantes a las observadas en los condrosarcomas mixoides y los paracordomas, asociadas a células fisalíferas (figura 34D). Se realizó estudio inmunohistoquímico con resultados diagnósticos de cordoma (positividad para marcadores epiteliales y proteína S100) en 4 de los 7 casos (tabla 41).

La tabla 41 resume los hallazgos ultraestructurales de los 7 cordomas. El estudio ultraestructural reveló una proliferación de células similares a las ya definidas como CPI, asociadas a escasas células con grandes vacuolas (fisalíferas), excepto en un caso, en el que no se observaron células fisalíferas en las zonas muestreadas para el estudio ultraestructural (figura 36).

En los casos en los que se observaron células fisalíferas, éstas aparecían como células con grandes vacuolas que contenían partículas de glucógeno, organelas degeneradas, mucina o estaban vacías (figura 37).

Las CPI se observaron agrupadas formando trabéculas cercanas a los vasos en 4 de los 7 casos (57,1%). En un caso se observaron microtúbulos ordenados paralelamente en el interior de cisternas de RER (figura 36, detalle).

En un caso se observó una imagen inespecífica pero que en la literatura clásica aparece descrita como típica de esta entidad, se trata de mitocondrias asociadas íntimamente a cisternas de RER (figura 39).

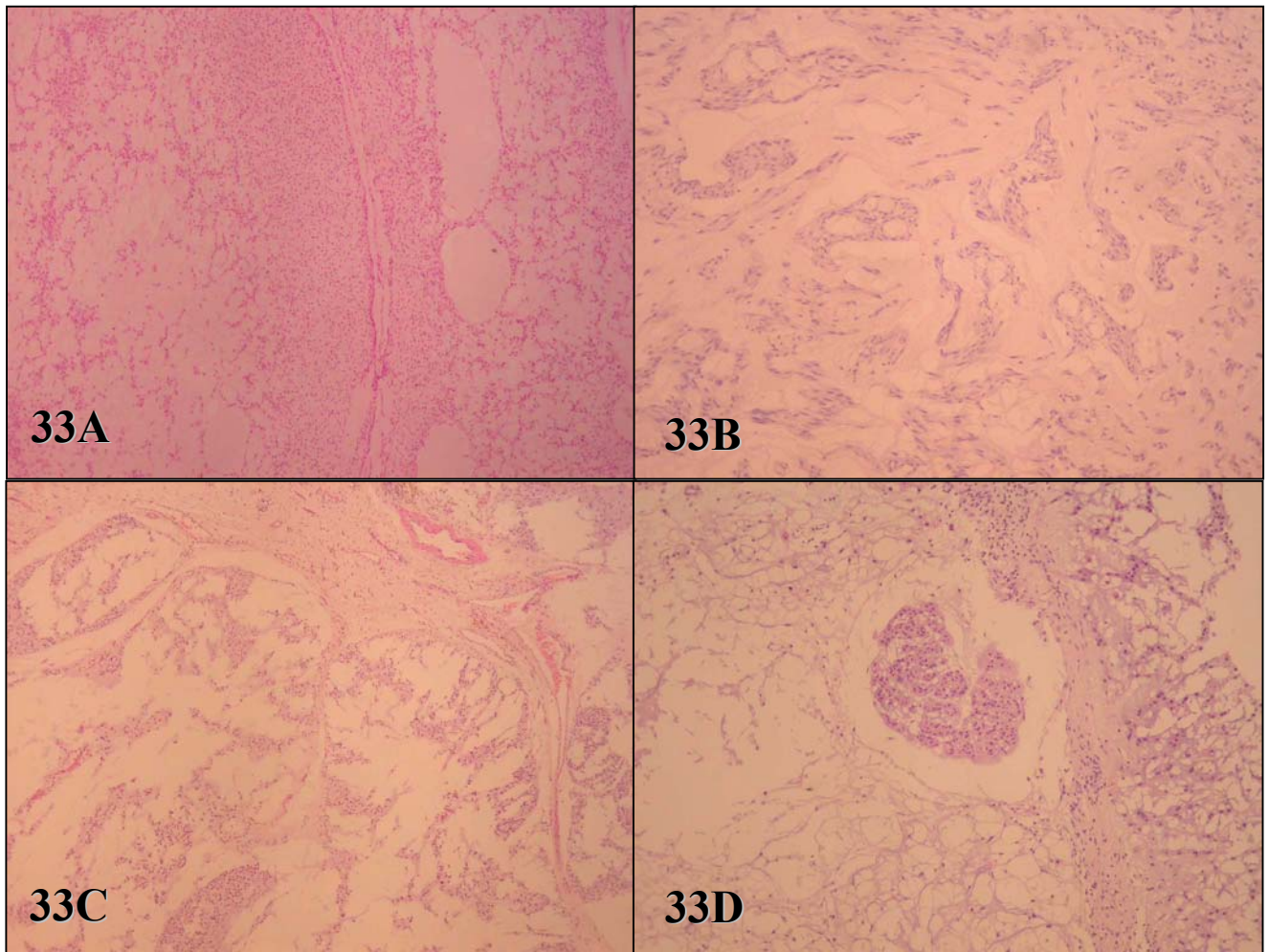


Figura 33: Características histológicas (panorámica) de los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos, paracordomas y cordomas. Obsérvese la semejanza de todos ellos. A: Zona de predominio condrosarcoma mixoide del osteosarcoma de predominio condroblástico. Obsérvese el patrón lobulado y la mayor celularidad periférica, así como la distribución de las células en hileras y cordones formando un patrón reticulado. B: Condrosarcoma mixoide extraesquelético. C: Paracordoma. D: Cordoma, en este caso se pueden observar además las células fisalíferas, como células con grandes vacuolas claras. Los casos de paracordomas incluidos eran histológicamente idénticos al patrón descrito para el condrosarcoma mixoide extraesquelético, con las mismas características generales clínicas pero positivos para marcadores inmunohistoquímicos epiteliales (citoqueratinas y antígeno de membrana epitelial). Los cordomas, además de ser positivos para marcadores epiteliales, contenían células fisalíferas y se localizaban en sitios típicos (base craneal y sacro, línea media).

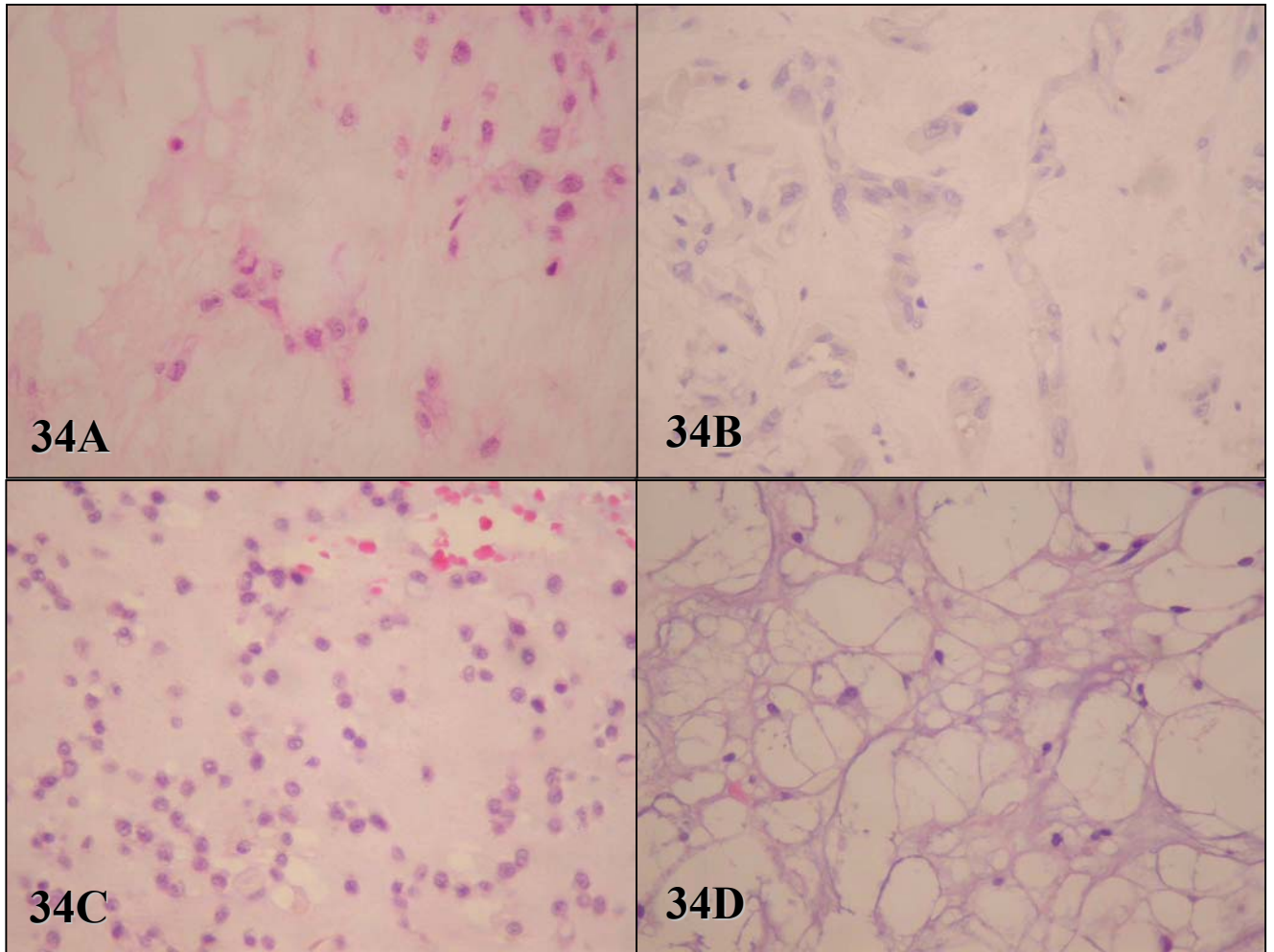


Figura 34: Detalle celular histológico de los mismos casos de la figura 33. Obsérvese la similitud de la distribución celular y de los detalles citológicos, se trata de células de pequeño tamaño, de núcleos ovales o redondeados sin atipia relevante y con escaso citoplasma, mal delimitado. A: osteosarcoma de predominio condroblástico. B: condrosarcoma mixoide. C: paracordoma. D: cordoma, en este caso se presenta una zona de células fisalíferas que distinguen este tipo tumoral de los otros tres con los que se compara.

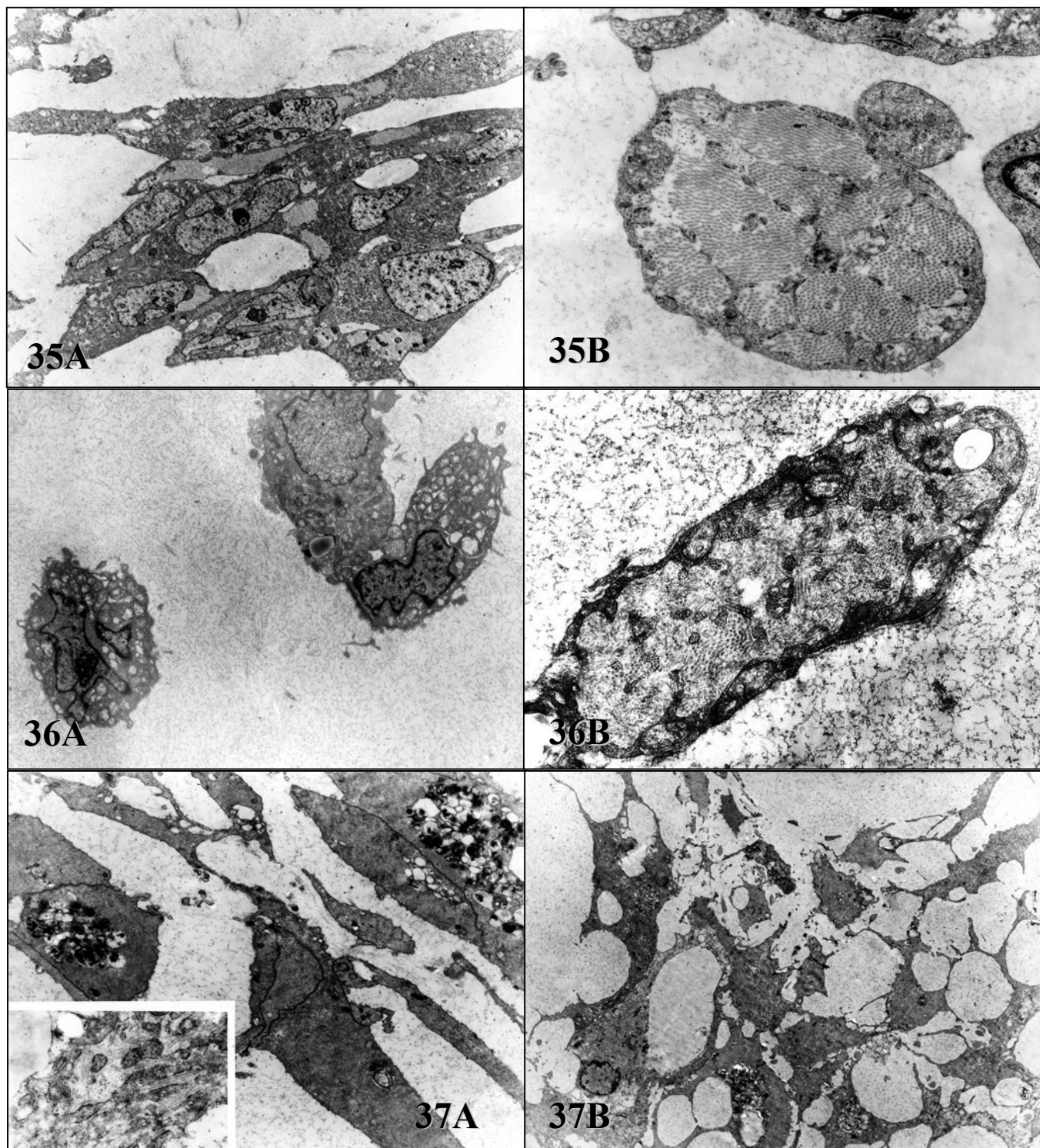


Figura 35: Características ultraestructurales del condrosarcoma mixoide extraesquelético. A: Imagen típica de CPIs estrelladas formando trabéculas con escasas uniones intercelulares (compárese con una imagen similar observada en mixofibrosarcomas, ver figura 18). B: Microtúbulos en cisternas de RER, imagen descrita en distintos tipos tumorales que en nuestros casos se observaron tanto en condrosarcomas mixoides extraesqueléticos, como en paracordomas, como en cordomas.

Figura 36: Características ultraestructurales del paracordoma. A: Imagen de tres CPIs de morfología más redondeada que en el caso anterior. B: Microtúbulos en cisternas de RER.

Figura 37: Características ultraestructurales del cordoma. A: Imagen de CPIs estrelladas en trabéculas (compárese con fig. 35), detalle: microtúbulos en cisternas de RER. B: Imagen ultraestructural de las células fisalíferas, en las que se observa que las vacuolas están formadas por inclusiones de matriz intercelular.

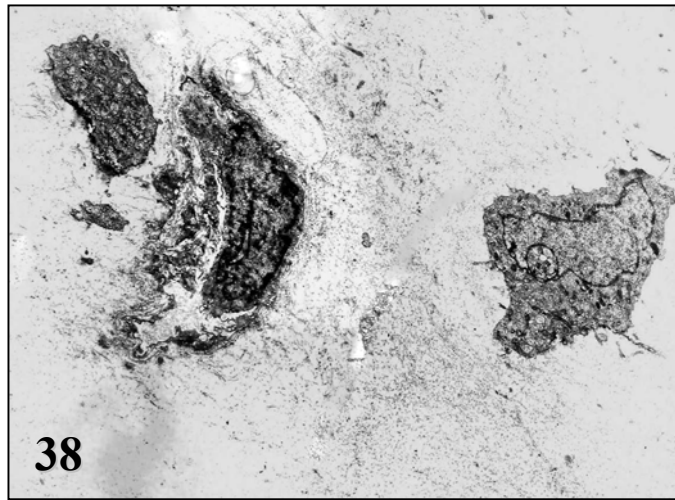


Figura 38: Imagen ultraestructural de un paraganglioma en el que se observa una CPI al lado de una estructura vascular.

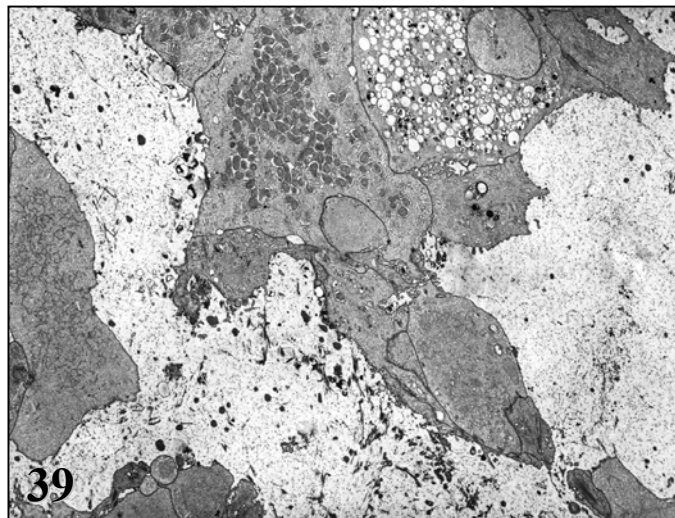


Figura 39: Imagen ultraestructural de CPIs formando trabéculas, en un cordoma con una imagen que se describió como típica de esta entidad: mitocondrias mezcladas con cisternas de RER.

TUMORES DE ESTIRPE NEURAL

Este grupo lo componen un total de 9 casos: 3 schwannomas (uno de ellos celular), 1 tumor maligno de vaina de nervio periférico (TMVNP), 2 neurotequeomas mixoides clásicos, 1 neurotequeoma celular y 2 neurofibromas mixoides (o al menos con zonas mixoides). Sus características clínicas se resumen en las tablas 42, 43 y 44.

La edad media de presentación fue de 20,5 años para los schwannomas, de 35,3 años para los neurotequeomas y de 36 años para los neurofibromas; el varón con TMVNP tenía 49 años, Entre los tumores de vaina de nervio periférico (schwannomas y TMVNP) existe un predominio de varones (3:1), así como entre los neurofibromas (2:0), al contrario que entre los neurotequeomas (1:2). En cualquier caso estas diferencias no son significativas debido al pequeño tamaño de la muestra. El tumor de mayor tamaño de todo el grupo fue el TMVNP (8,5 cm de diámetro mayor). La localización más frecuente fue en partes blandas superficiales, aunque también se incluye un caso de localización profunda (un schwannoma intratorácico extrapleural).

Características microscópicas

Los schwannomas presentaban las características histológicas diagnósticas de la entidad: tumores encapsulados con zonas celulares (Antoni A) en las que se observaban cuerpos de Verocay y zonas hipocelulares (Antoni B) fibrosas o mixoides en las que se observaban vasos de calibre mediano con hialinización de su pared (de las zonas menos celulares se realizó el muestreo para el estudio ultraestructural). El schwannoma celular presentaba ocasionales cuerpos de Verocay, era densamente celular, pero no se observaba atipia y el índice mitótico era bajo.

Los neurofibromas presentaban focalmente zonas mixoides de las que se tomaron muestras para el estudio ultraestructural, se trataba de tumores mal delimitados constituidos por células fusiformes de núcleos ondulados y afilados y sin atipia.

El neurotequeoma clásico era un tumor de patrón plexiforme constituido por células fusiformes o estrelladas sin atipia nuclear, en el seno de nódulos mixoides separados por tractos fibrosos. El neurotequeoma celular era un tumor parecido al clásico, de patrón plexiforme, pero con menos zonas mixoides y mayor densidad celular. Las células que lo constituían eran epitelioides con mayor cantidad de citoplasma. Se observó atipia nuclear focal y bastantes mitosis, algunas de ellas atípicas en este caso. Este tumor presentaba un patrón de crecimiento infiltrativo.

El TMVNP era un sarcoma fusocelular con zonas mixoides sin signos de diferenciación histológica, en el que el estudio ultraestructural sugería diferenciación neural.

Características ultraestructurales

Las características ultraestructurales de este grupo de tumores se resumen en la tabla 45, donde además se detalla si se realizó estudio inmunohistoquímico en el momento del diagnóstico (en los tres neurotequeomas). El TMVNP es un caso anterior a la utilización rutinaria de la inmunohistoquímica; en el momento de realizar este estudio, se confirmaron sus rasgos de diferenciación neural ultraestructurales).

Los schwannomas presentaban rasgos ultraestructurales repetitivos y característicos, por lo tanto diagnósticos. Se estudiaron las zonas de Antoni B porque eran menos celulares y tenían matriz mixoide, en ellas la matriz era mixoide inespecífica como la descrita en otros tipos de tumor, conteniendo fibras de colágeno y cuerpos de Luse (fibras de colágeno tipo IV con una periodicidad de 90-120 nm. La

célula predominante (prácticamente la totalidad de la celularidad) fue la célula de Schwann que caracterizada por sus largas prolongaciones interdigitadas formando pseudomesoaxones (tienen axón central) con escasas uniones. Estas células estaban revestidas por una lámina externa continua, a veces duplicada. El citoplasma mostró de forma característica microtúbulos y filamentos en las prolongaciones celulares, así como algunas vesículas. El citoplasma perinuclear contenía escaso aparato de Golgi, mitocondrias, RER, ribosomas y lisosomas. El núcleo presentaba morfología de cigarro, con contornos lisos, cromatina variable y 1 ó 2 pequeños nucleolos (figura 40).

Los neurofibromas estaban constituidos por una mezcla de células derivadas del “envoltorio” del nervio, aunque en los tres, la célula predominante fue el fibroblasto, en dos de ellos con prolongaciones bipolares finas (fibroblasto perineural) y también miofibroblastos, no se observaron células de Schwann (figura 41).

Sólo uno de los neurotequeomas clásicos de nuestra serie presentaba como célula predominante la célula de Schwann, el otro estaba constituido por células mesenquimales indiferenciadas, de morfología redondeada con escasos orgánulos citoplasmáticos (figura 42). En cuanto al neurotequeoma celular, en nuestro caso no parecía tener rasgos ultraestructurales de diferenciación neural y las células que lo constituían eran células fusiformes primitivas y células con rasgos de diferenciación muscular lisa (figura 43).

El TMVNP presentaba rasgos sugestivos de diferenciación neural, pero no diagnósticos como en los schwannomas; Por ejemplo, las prolongaciones interdigitadas y la presencia de lámina externa aunque discontinua. Un hallazgo prácticamente diagnóstico que no presentaba nuestro caso es la presencia de pseudomesoaxones. Estaba constituido por células estrelladas, atípicas y con muchas prolongaciones largas y entrecruzadas (células con rasgos de diferenciación de vaina de nervio periférico) y por

células miofibroblásticas (figura 44). Sólo se observaba patrón de distribución trabecular perivascular en dos casos (un schwannoma y un neurotequeoma).

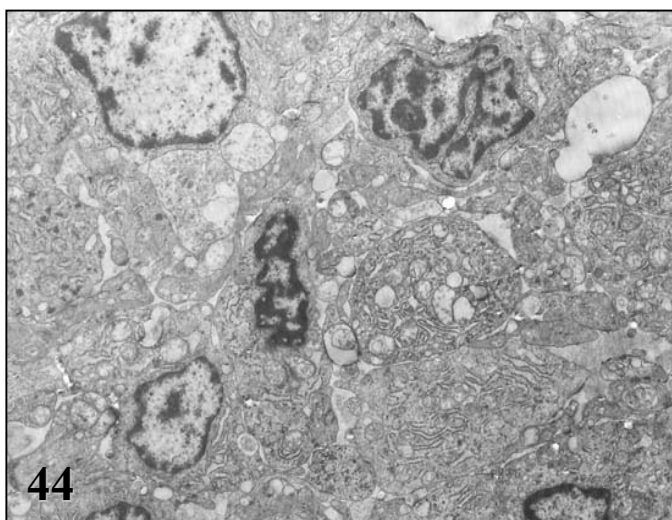
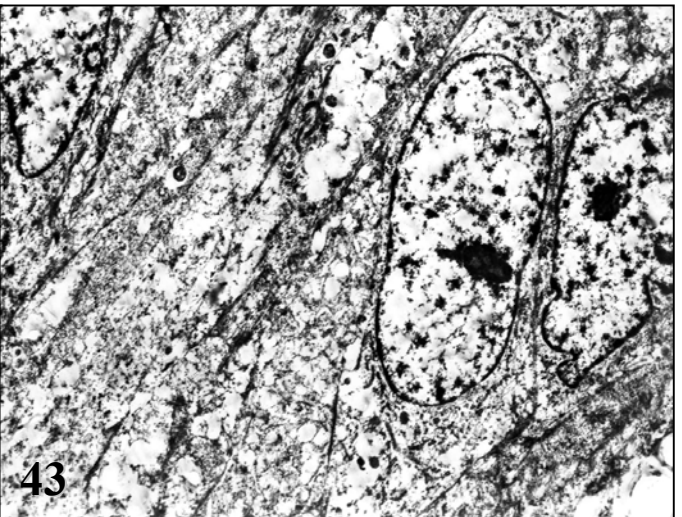
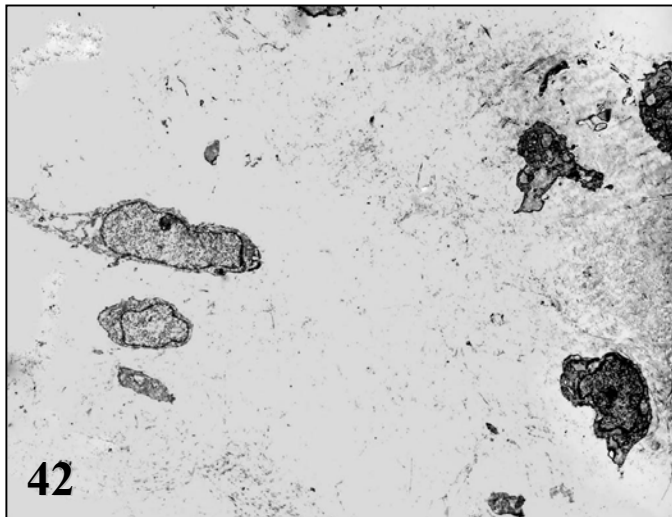


Figura 40: Imagen ultraestructural diagnóstica de schwanoma, en la que se observan células con prolongaciones revestidas por lámina basal y microtúbulos intracitoplasmáticos asociadas a cuerpos de Luse en la matriz extracelular.

Figura 41: Imagen ultraestructural de un fibroblasto perineural en un neurofibroma, con las características prolongaciones bipolares finas.

Figura 42: Imagen ultraestructural de uno de los neurotequeomas clásicos, en el que se observaron células redondas indiferenciadas en una abundante matriz extracelular.

Figura 43: Imagen ultraestructural de las células del neurotequeoma celular con rasgos de diferenciación muscular lisa: presencia de filamentos finos con cuerpos densos intracitoplasmáticos y presencia de vesículas de pinocitosis.

Figura 44: Imagen ultraestructural del TMVNP en el que se observaron células indiferenciadas pero con gran cantidad de prolongaciones entrecruzadas (seudoneuropilo).

MISCELÁNEA

En este grupo se incluyen 7 casos divididos en dos grupos: casos indeterminados: 3 tumores de tipificación incierta que no se han podido encuadrar en ninguna de las entidades descritas, uno de ellos es un tumor benigno constituido por células gigantes multinucleadas de aspecto miofibroblástico, un tumor constituido por escasas células fusiformes sin atipia que ocasionalmente se organizaban en remolinos sugiriendo un perineuroma, pero que resultó negativo para EMA y un caso constituido por células moderadamente atípicas con abundantes figuras de mitosis y distribuidas en hileras pero sin un patrón de condrosarcoma mixoide extraesquelético que en el estudio ultraestructural presentaba algunos rasgos de diferenciación lipoblástica (células similares a prelipoblastos cerca de los vasos y más alejadas), CPIs y células con gránulos neurosecretorios (figura 45 (A-G)). En otro grupo incluimos un fibromixoma extragnático, un sarcoma indiferenciado embrionario de localización hepática, uniringoma condroide y un carcinoma mucinoso, estos dos últimos casos se incluyeron porque tenían informes de estudios ultraestructurales de las zonas mixoides, pero las células que se encontraron en esta matriz eran epiteliales.

Las características clínicas y las características ultraestructurales de estas entidades se resumen en las tablas 46 y 47.

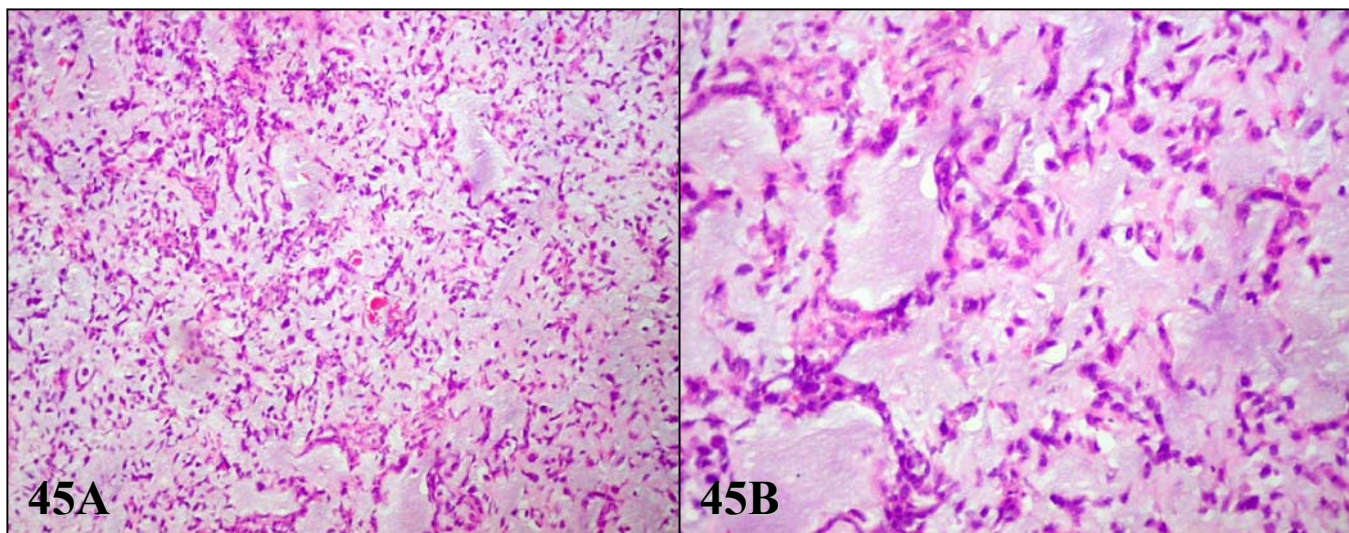


Figura 45A: Caso 8, panorámica histológica en la que se observa un patrón reticular de las células que recuerda al de los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos. No se observó patrón lobulado con aumento de la celularidad en la periferia lobular. Tampoco se observaron lipoblastos ni el patrón vascular típico del liposarcoma mixoide. La proteína S100 fue negativa.

Figura 45B: Detalle celular del mismo caso en el que se observa mejor la disposición en hilera de las células, y el mayor grado de atipia citológica comparado con los casos de las figuras 33y 34.

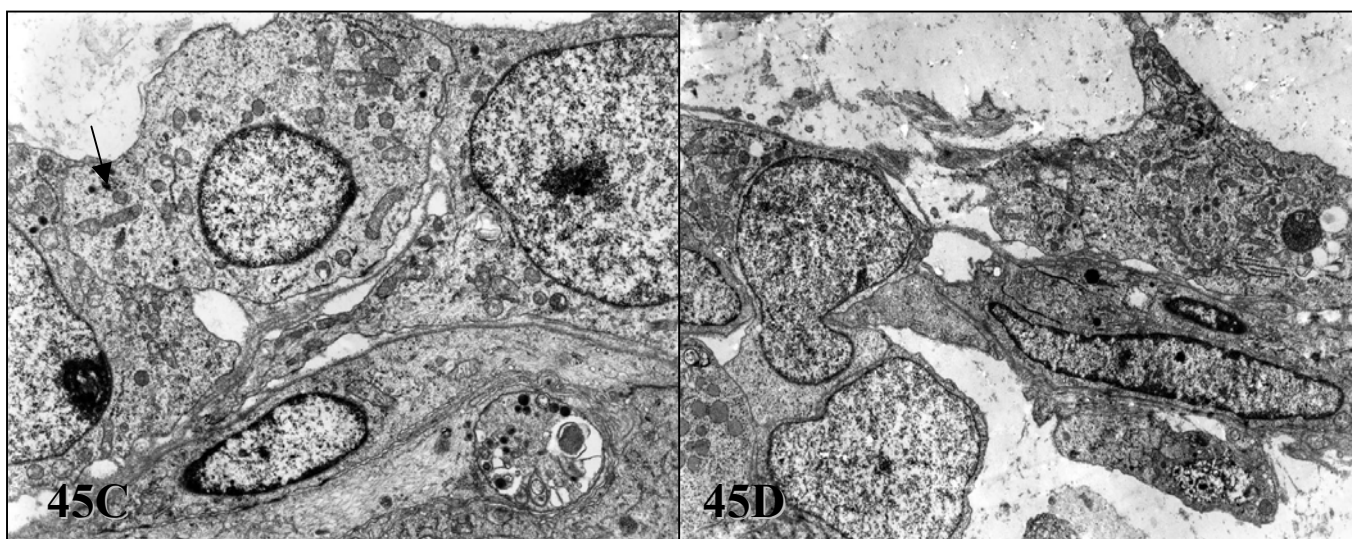


Figura 45C y D: Imágenes ultraestructurales del caso 8 en el que se aprecia que está constituido por células indeterminadas formando trabéculas, que tienen algo más de citoplasma inespecífico y que en algunos focos se encontraban alrededor de los vasos. Puede apreciarse la presencia de gránulos osmiófilos de tipo neuroendocrino en el citoplasma de las células (flecha).

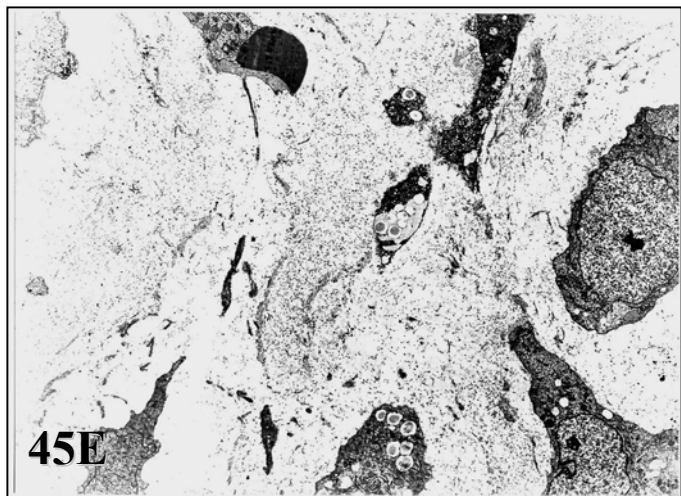


Figura 45E: Panorámica ultraestructural del caso 8 en el que se observan células indeterminadas con variable cantidad de vacuolas adiposas

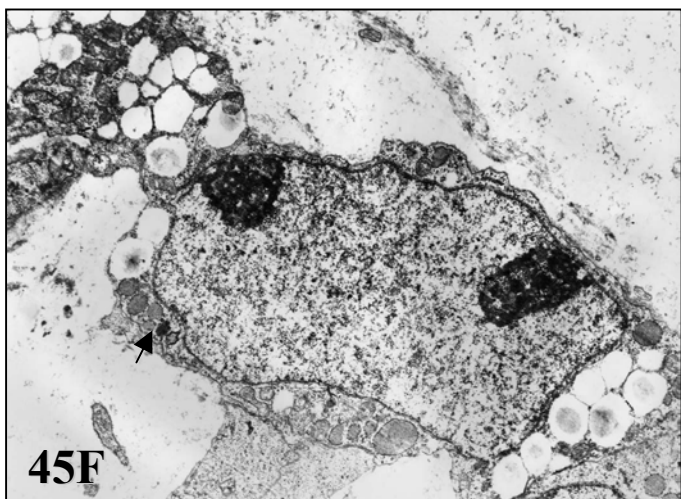


Figura 45 F: Imagen de una célula indeterminada e el caso 8 similar a un prelipoblasto alejado de los vasos y con presencia de gránulos osmiófilos citoplasmáticos (flecha).

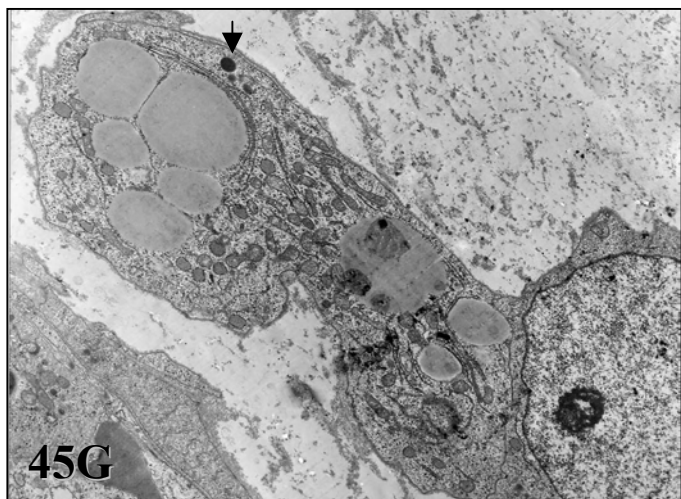


Figura 45 G: Imagen similar a la anterior, célula indeterminada similar a un prelipoblasto pero en esta imagen al lado de un vaso capilar. También se observan gránulos osmiófilos en el citoplasma (flecha).

ESTUDIO DE GELATINA DE WHARTON

Se estudiaron 10 muestras de cordones umbilicales de embriones normales, sin malformaciones, ni alteraciones inflamatorias. Se estudiaron las zonas cercanas a los vasos y zonas más alejadas de los mismos. En las zonas alejadas de vasos se observaron células aisladas, de morfología alargada con abundantes cisternas de RER y filamentos finos con cuerpos densos, es decir células con diferenciación miofibroblástica. En las zonas cercanas a los vasos se observaron algunas células de morfología alargada o estrellada con una cantidad variable de orgánulos intracitoplasmáticos y sin signos de diferenciación evidente. Estas células son similares a las células perivasculares indeterminadas observadas en neoplasias en esta serie (figuras 46 A y B). También se observaron células con abundantes filamentos finos con cuerpos densos, rasgo que sugería diferenciación muscular lisa incipiente.

En la tabla 4 se resume el número de casos por tipo neoplásico y el porcentaje de ellos en que se observaron CPI.

Tal y como hemos ido describiendo en los resultados, las CPI son células poligonales o estrelladas que presentan escaso citoplasma con pocas organelas (sólo algunas cisternas de RER), sin diferenciaciones de superficie y que se disponen en pequeñas trabéculas de 2 a 4 células que, ocasionalmente, presentan uniones rudimentarias. Estas trabéculas suelen observarse en relación (cerca o en contacto) con capilares vasculares.

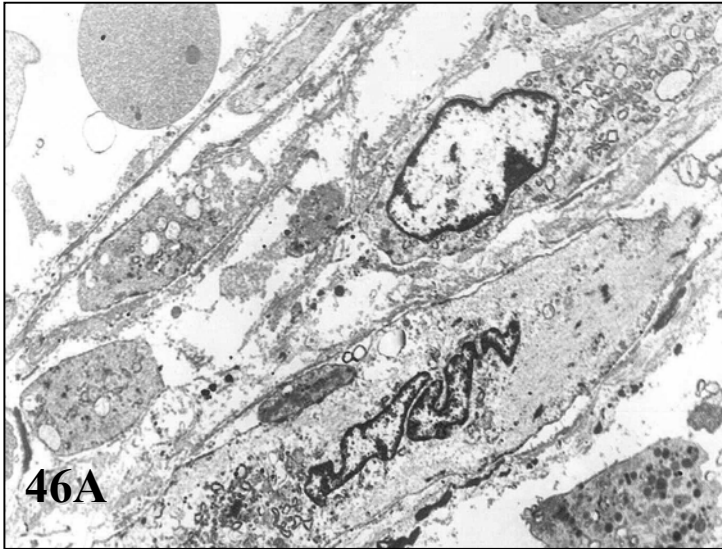


Figura 46A: Célula perivascular indeterminada cercana a un vaso en gelatina de Wharton de cordón umbilical. Se puede observar también un miocito liso escasamente diferenciado con núcleo irregular y abundantes filamentos finos con cuerpos densos.

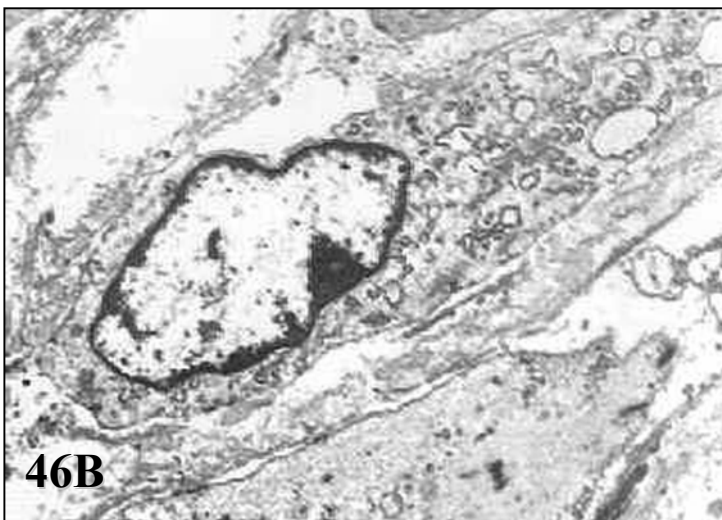


Figura 46B: Detalle de la célula perivascular indeterminada de la figura 46A. Presenta abundantes orgánulos citoplasmáticos pero no signos de diferenciación específicos.

TABLAS

TABLAS:

Tabla 1: Panel de diagnóstico diferencial inmunohistoquímico de los tumores mixoides de partes blandas.

Tumor	Qu	S100	AME	AML	CD34	GFAP	Desmina
Angiomixoma superficial	-	-	-	-	+	-	-
Fascitis nodular mixoide	-	-	+	+	-	-	-
Neurofibroma mixoide	-	focal	-	-	-	-	-
Mixolipoma	-	+/-	-	-	+	-	-
Neurotequeoma	-	+	-	-	-	-	-
Mixomas	-	-	-	-	+/-	-	-
T. fibromixoide osificante	-	+70%	+/-	+/-	-	+/-	+50%
Angiomixoma agresivo	-	-	+	+	-	-	+
Mixofibrosarcoma	-	-	+/-	+/-	-	-	-
Sarcoma fibromixoide	+/-	-	+/-	+/-	+/-	-	+/-
Liposarcoma mixoide	-	+40%	-	-	-	-	-
Condrosarcoma mixoide	-	+20%	-	-	-	-	-
Leiomiomasarcoma mixoide	+20%	-	+90%	+90%	-	-	+50%
TMVN mixoide	-	+50%	+/-	+/-	-	-	-
DFSP mixoide	-	-	-	-	+	-	-
Ependimoma mixopapilar	-	+	-	-	-	+	-

Tabla 2: Asociación de alteraciones genéticas específicas con tumores mixoides de partes blandas.

Tumor	Alteración genética	Genes
Mixolipoma	13q y/o 16q	Desconocidos
Liposarcoma mixoide	t(12;16)(q13;p11)	CHOP/FUS(TLS)
	t(12;22)(q13;p11)	CHOP/EWS
Condrosarcoma mixoide	t(9;22)(q22-31;q11-12)	EWS/CHN(TEC)
Angiomixoma agresivo	12q13-15	HMGIC
Mixofibrosarcoma	Cromosoma en anillo	Desconocido

Tabla 3: Casos anulados

CASO	DIAGNÓSTICO	RAZÓN DE LA ANULACIÓN
9	fibromatosis	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
25	fascitis nodular	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
26	fascitis nodular	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
43	tumor glómico mixoide	ausencia de tumor en el muestreo ultraestructural
45	cordoma	material inadecuado para estudio ultraestructural
75	liposarcoma	material perdido en proceso de archivo us
84	sarcoma sinovial	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
99	seudomixoma peritoneal	material inadecuado para estudio ultraestructural
100	ganglión	material inadecuado para estudio ultraestructural
101	leiomioma	material inadecuado para estudio ultraestructural
102	ependimoma mixopapilar	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
110	sarcoma Ewing	ausencia de áreas mixoides en muestreo us
112	hamartoma condroide	material inadecuado para estudio ultraestructural

Tabla 4: Serie completa de casos incluidos y su diagnóstico.

DIAGNÓSTICO	Nº DE CASOS	CASOS
LIPOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES	2	113, 98
T. LIPOMATOSOS ATÍPICO	1	36
LIPOSARCOMA MIXOIDE	9	96, 34, 35, 72, 72, 74, 76, 77, 78
LIPOSARCOMA PLEOMÓRFICO	1	71
FASCITIS NODULAR	1	27
FIBROBLASTOMA DESMOPLÁSICO	1	29
MIOFIBROBLASTOMA	1	91
MIXOFIBROSARCOMA	13	24, 50, 51, 63, 93, 2, 5, 7, 37, 46, 47, 23, 53
SA FIBROMIXOIDE DE BAJO GRADO	2	33, 92
ANGIOLEIOMIOMA	1	1
LEIOMIOMA	1	20
LEIOMIOSARCOMA UTERINO	1	47
RABDOMIOMA	2	18, 19
RABDOMIOSARCOMA EMBRIONARIO	6	104, 105, 106, 107, 108, 109
RABDOMIOSARCOMA PLEOMÓRFICO	1	89
RABDOMIOSARCOMA MIXTO	1	28
CONDROMA DE PARTES BLANDAS	1	85
CONDROSARCOMA ESQUELÉTICO	1	87
CONDROSARCOMA MIXOIDE EXES	2	31, 48
PARACORDOMA	2	68, 69
MIXOMA YUXTA-ARTICULAR	4	32, 59, 64, 65
ANGIOMIXOMA AGRESIVO	2	52, 58
ANGIOMIXOMA SUPERFICIAL	2	66, 90
TUMOR FIBROMIX OSIFICANTE	2	55, 111
MIXOMA CARDIACO	4	94, 95, 16, 17
CORDOMA	7	103, 11, 12, 21, 22, 44, 86

Tabla 4(cont.): Serie completa de casos incluidos y su diagnóstico.

DIAGNÓSTICO	Nº DE CASOS	CASOS
SCWANOMA	3	4, 6, 10
NEUROTEQUEOMA CLÁSICO	2	49, 80
NEUROTEQUEOMA CELULAR	1	81
NEUROFIBROMA	2	30, 42
TUMOR MALIGNO DE VNP	1	83
SARCOMA EMBRIONARIO	1	14
SIRINGOMA CONDROIDE	1	3
CARCINOMA	1	88
FIBROMIXOMA EXTRAGNÁTICO	1	82
NO TIPIFICABLES	3	61, 79, 8
TOTAL	87	

Tabla 5: Hallazgos ultraestructurales comunes a distintas entidades. Casos que presentan

CPI/Casos totales.

DIAGNÓSTICO	CPI/TOTAL	%
LIPOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES	1/2	50
T. LIPOMATOSO ATÍPICO	1/1	100
LIPOSARCOMAS	9/10	90
MIXOFIBROSARCOMA	7/13	54
SA FIBROMIXOIDE DE BAJO GRADO	1/2	50
T. MIOFIBROBLÁSTICOS BENIGNOS	1/3	33
T. MÚSCULO LISO	0/3	0
RABDOMIOMAS	0/2	0
RABDOMIOSARCOMAS	6/8	75
T. CONDRALES	0/2	0
CONDROSA MIXOIDE EXTRAESQ	2/2	100
PARACORDOMAS	2/2	100
MIXOMAS YUXTAARTICULARES	1/4	25
ANGIOMIXOMAS AGRESIVOS	2/2	100
ANGIOMIXOMAS SUPERFICIALES	0/2	0
T. FIBROMIXOIDE OSIFICANTE	1/2	50
MIXOMAS CARDIACOS	0/4	0
CORDOMAS	7/7	100
T. NEURALES	0/9	0
MISCELÁNEA	1/7	14,3
TOTAL	42/87	48,27

TUMORES ADIPOCÍTICOS

Tabla 6: Características clínicas de lipoma de células fusiformes (M=mujer, V=varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, pb= partes blandas)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC
98	V	67	cuello (pb)	8.5x6.5x3	12Oct
113	V	68	cuello (pb)	--	12Oct

Tabla 7: Características clínicas del tumor lipomatoso atípico-liposarcoma bien diferenciado (V=varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC
36	V	61	retroperitoneo	3x2x2	12Oct

Tabla 8: Características clínicas de los liposarcomas mixoides. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC.
96=97	V	35	retroperitoneo	11x13x9	12Oct
34	M	--	--	--	12Oct
35	--	--	--	--	Talavera
72	V	69	subcutáneo	11x8.5	12Oct
73	M	--	pb	--	Alcalá
74	V	41	muslo derecho (pb)	14.2x9x6	12Oct
76	M	--	recto anterior (pb)	--	Alcalá
77	V	32	tobillo(pb)	5x4x2.5	Segovia
78	M	35	huevo poplíteo (pb)	5x7.5x4	12Oct

Tabla 9: Características clínicas del liposarcoma pleomórfico con matriz mixoide(M=mujer, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, pb= partes blandas):

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC
71	M	62	abdomen (pb)	--	12Oct

Tabla 10: Características ultraestructurales de los lipomas de células fusiformes (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN
98	c. fusiformes, estrelladas	CPI	sí
113	c. fusiformes primitivas	--	no

Tabla 11: Características ultraestructurales del tumor lipomatoso atípico-liposarcoma bien diferenciado

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN
36	lipoblastos, miofibroblastos,	CPI	sí

Tabla 12: Características ultraestructurales e histológicas de los liposarcomas mixoides (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, C. REDONDAS= componente de células redondas).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	C. REDONDAS
96=97	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	sí
34	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	no	no
35	lipoblastos	prelipoblastos	sí	--
72	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	no	sí
73	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	--
74	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	sí
76	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	--
77	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	no	--
78	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	sí

Tabla 13: Características ultraestructurales del liposarcoma pleomórfico con matriz mixoide

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	C. REDONDAS
71	lipoblastos	CPI y prelipoblasto	sí	no

TUMORES DE FIBROBLASTOS/MIOFIBROBLASTOS

Tabla 14: Características clínicas de las proliferaciones benignas de miofibroblastos (fascitis nodular, fibroblastoma desmoplásico, miofibroblastoma) (M=mujer, V=varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, HSO = hospital Severo Ochoa, pb= partes blandas)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO	DIAGNÓSTICO	PROC
27	V	59	hombro	3,6x2,5x2,6	fascitis nodular	12Oct
29	V	13	base craneal (pb)	7	fibroblastoma desm	12Oct
91	V	57	mama	3	miofibroblastoma	HSO

Tabla15: Características clínicas de los mixofibrosarcomas. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, Clín N= Clínica Naval, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC.
24	M	--	--	--	Clín. N.
50	V	64	plantar izquierdo	--	Segovia
51	M	--	pélvico, (pb y h)	--	Alcalá
63	V	65	pb	5x3	12Oct
93	V	62	muslo (pb)	8x7	12Oct
2	V	36	pie (pb y h)	10x8x3	12Oct
5	M	60	esternón (pb y h)	20	12Oct
7	V	76	axila y escápula (pb y h)	--	12Oct
37-40	V	78	antebrazo (pb)	3.5	12Oct
46	V	78	testículo	9x6x6	12Oct
67	V	--	pb	--	Gandía
23	V	35	maxilar y ojo (pb y h)	4x8	12Oct
53	V	29	retroperitoneo	27x17x11	12Oct

Tabla 16: Características clínicas de los sarcomas fibromixoides de bajo grado (fibrosarcomas mixoides) (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, FHA= Fundación Hospital Alcorcón).

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO	PROC
33=41	M	60	mediastino y pb torax	4x4x1cm	12Oct
92	V	75	retroperitoneo	1975 grs	FHA

Tabla 17: Grado histológico y patrón inmunohistoquímico de los mixofibrosarcomas (IHQ= inmunohistoquímica).

CASO	GRADO HISTOLÓGICO	IHQ
24	alto grado	--
50	alto grado	--
51	--	--
63	alto grado	fenotipo mesenquimal inespecífico (VIM +)
93	alto grado	--
2	bajo grado	fenotipo mesenquimal inespecífico (VIM +)
5	bajo grado	--
7	alto grado	--
37=40	bajo grado	--
46	bajo grado	--
67	--	--
23	bajo grado	--
53	bajo grado	fenotipo mesenquimal inespecífico (VIM +)

Tabla 18: Grado histológico y patrón inmunohistoquímico de los sarcomas fibromixoides de bajo grado (fibrosarcomas mixoides) (IHQ= inmunohistoquímica).

CASO	GRADO HISTOLÓGICO	IHQ
33=41	bajo grado	--
92	bajo grado	--

Tabla 19: Características ultraestructurales de las proliferaciones fibroblásticas/miofibroblásticas benignas (fascitis nodular, miofibroblastoma, fibroblastoma desmoplásico, DGCO= diagnóstico).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	DGCO
27	miofibroblastos	--	no	fascitis nodular
29	miofibroblastos	CPI	sí	fibroblastoma
91	miofibroblastos	--	no	miofibroblastoma

Tabla 20: Características ultraestructurales de los mixofibrosarcomas (CPI= célula perivascular indeterminada, indiferenc: indiferenciadas).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN (trabecular perivasc)
24	fibroblastos	CPI	sí
50	miofibroblastos	indiferenc. pleomorfos	no
51	miofibroblastos	--	no
63	fibroblastos	--	no
93	fibroblastos	CPI	sí
2	CPI	--	sí
5	CPI	--	sí
7	inespecíficas	--	no
37=40	fibroblastos, miof	CPI	sí
46	miofibroblastos	CPI	sí
67	miofibroblastos, fb	--	no
23	miofibr, músculo liso?	--	no
53=54	fibroblastos	CPI	sí

Tabla 21: Características ultraestructurales de los sarcomas fibromixoides de bajo grado. (CPI= célula perivascular indeterminada).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN (trabecular perivasc)
33=41	miofibroblastos	CPI	sí
92	fibroblastos	--	no

TUMORES DE MÚSCULO LISO

Tabla 22: Características clínicas de los tumores de músculo liso (leiomioma mixoide, angioleiomioma con zonas de degeneración mioide y leiomiosarcoma uterino) . (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	DIAGNÓSTICO	PROC.
20	M	28	areola	2x2	leiomioma	12Oct
1	V	52	dedo mano(pb)	2.5	angioleiomioma	12Oct
47	M	70	útero	17	leiomiosarcoma	12Oct

Tabla 23: Características ultraestructurales de los tumores de músculo liso (dgco= diagnóstico).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	DGCO
20	miofibroblastos-m. liso	--	no	leiomioma
1	m. liso	--	no	angioleiomioma
47	m. liso	--	no	leiomiosarcoma

TUMORES DE MÚSCULO ESQUELÉTICO

Tabla 24: Características clínicas de rabdomioma (M=mujer, V=varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, pb= partes blandas)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TIPO	PROC
18	M	32	vagina	genital	12Oct
19	V	75	mejilla	fetal interm	12Oct

Tabla 25: Características clínicas de los rabdomiosarcomas. (M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, Clín N= Clínica Naval, 12Oct= casos propios, HNJ= Hospital del Niño Jesús, rp = retroperitoneo)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
104	M	35	vejiga	0.3	12Oct
105	M	12	órbita	1.5x1x0.8	12Oct
106	V	2	--	--	HNJ
107	V	3	vejiga	0.6x0.4x0.2	12Oct
108	V	3	retrovesical	2x1.7x0.3	12Oct
109	V	3	vejiga	0.5x0.3x0.2	12Oct
28	V	57	rp (mixto)	30x20x11	12Oct
89	V	31	rp (pleomórf)	25x15x19	12Oct

Tabla 26: Características ultraestructurales de los rabdomiomas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, IHQ= estudiado mediante inmunohistoquímica).

CASO	C. PREDOMINANTE	C. SECUNDARIA	PATRÓN	IHQ
18	rabdomioblasto	--	no	--
19	rabdomioblasto	--	no	--

Tabla 27: Características ultraestructurales de los rabdomiosarcomas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, IHQ= estudiado mediante inmunohistoquímica).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	IHQ
104	rabdomioblasto	CPI	sí	no
105	rabdomioblastos	--	no	sí
106	rabdomioblastos indiferenciados	--	no	--
107	rabdomioblastos	CPI	sí	no
108	rabdomioblastos indiferenciados	CPI	sí	no
109	rabdomioblastos	CPI	sí	no
28	rabdomioblastos indiferenciados	CPI	no	sí
89	rabdomioblastos	CPI	sí	no

TUMORES CONDRALES

Tabla 28: Características clínicas de condroma de partes blandas (M=mujer, V=varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, pb= partes blandas)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
85	V	14	muslo (pb)	5x6	12Oct

Tabla 29: Características clínicas de condrosarcoma esquelético con degeneración mixoide. (M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
87	M	--	--	2	12Oct

Tabla 30: Características ultraestructurales del condrosarcoma esquelético con degeneración mixoide y del condroma de partes blandas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, Túbulos/rer: presencia de microtúbulos en cisternas de RER).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. 2^{aria}	PATRÓN	DGCO	túbulos/RER
87	condroblasto	--	no	condrosarcoma esquel.	No
85	condrocito	--	no	condroma de pb	no

TUMORES DE DIFERENCIACIÓN INCIERTA

Tabla 31: Características clínicas de los mixomas. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, GU= Gómez Ulla)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
94	M	68	corazón	6x4.5x2	12Oct
95	M	74	aurícula	6x3x2	12Oct
16	M	69	v. mitral	6x4x2	12Oct
17	M	60	corazón	6	12Oct
32	V	19	tendón de Aquil	--	GU
59	M	82	hueco poplíteo	2.7x2.4	12Oct
64	M	28	yuxtarticular	--	Segovia
65	V	86	raíz muslo (pb)	4.5x3x1	12Oct

Tabla 32: Características clínicas de los tumores fibromixoides osificantes. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, SC= Santa Cristina)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
55=56	M	71	rodilla (pb)	2x2	12Oct
111	M	--	vulva	--	SC

Tabla 33: Características clínicas de los angiomixomas agresivos y superficiales cutáneos. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
66	V	30	pierna (superf)	6,5x5x1,5	12Oct
90	M	87	dedo pie (superf)	1.7	12Oct
52	M	49	vulva	8x6.5x6	12Oct
58	M	43	vulva	2.5	12Oct

Tabla 35: Características clínicas de los condrosarcomas extraesqueléticos. (pb= partes blandas,

M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
31	M	50	tobillo (pb)	45	12Oct
48	V	49	calota (pb y h)	13x8x2	12Oct

Tabla 36: Características clínicas de los paracordomas. (pb= partes blandas, M= mujer, V= varón,

PROC= procedencia, Salam=Salamanca, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
68	V	71	muslo (pb)	6.5	12Oct
69	--	--	--	--	Salam

Tabla 37: Características ultraestructurales de los mixomas cardíacos, yuxtarticulares,

angiomixomas agresivos y superficiales (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	DGCO
94	redonda indiferenciada	--	no	cardíaco
95	redonda indiferenciada	--	sí	cardíaco
16	redonda indiferenciada	--	sí	cardíaco
17	redonda indiferenciada	--	--	cardíaco
32	fibroblastos	miofibroblastos inmad	no	mixoma Y
59	fibroblastos	CPI	sí	mixoma Y
64	fibroblastos	--	no	mixoma Y
65	fibroblastos	miofibroblastos	no	mixoma Y

Tabla 37(cont): Características ultraestructurales de los mixomas cardíacos, yuxtarticulares,

angiomixomas agresivos y superficiales (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular).

CASO	C. DIAGNÓSTICA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	DGCO
66	fibroblastos	miofibroblastos	no	angiomixoma sup
90	miofibroblastos	fibroblastos	no	angiomixoma sup
52	miofibroblastos inmad	CPI	sí	angiomixoma ag
58	miof, miocito liso	CPI	sí	angiomixoma ag

Tabla 38: Características ultraestructurales de los tumores fibromixoides osificantes (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular).

CASO	C. PREDOMINANTE	C. SECUNDARIA	PATRÓN	DGCO
55	miofibroblastos	CPI	sí	tfmo atípico
---	miofibroblastos	--	no	tfmo

Tabla 39: Características ultraestructurales de los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos y los paracordomas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, Túbulos/rer: presencia de microtúbulos en cisternas de RER).

CASO	C. DCA	C. 2^{aria}	PATRÓN	DGCO	túbulos/RER
48	CPI	--	sí	condrosarcoma	no
31	CPI	miofibr	sí	condrosarcoma	sí
68	CPI	--	sí	paracordoma	sí
69=70	miofibroblastos	CPI	sí	paracordoma	sí

CORDOMAS

Tabla 40: Características clínicas de los cordomas. (pb= partes blandas, h=hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios, HNJ= hospital del Niño Jesús)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
103	V	60	clivus (h)	2x2x0.4	12Oct
11	V	60	clivus, nasof(h)	5	12Oct
12	M	11	clivus (h)	--	HNJ
21	V	55	sacroccix (h)	9x7x10	12Oct
22	M	78	cuello (pb)	--	12Oct
44	M	66	peñasco izdo (h)	2x2x0.3	12Oct
86	M	70	sacro (h)	2x2x2	12Oct

Tabla 41: Características ultraestructurales de los cordomas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, IHQ= realizadas técnicas de inmunohistoquímica).

CASO	C. DGCA	C. 2º	PATRÓN	IHQ	túbulos/RER
103	fisalífera	CPI	sí	sí	no
11	fisalífera	CPI	no	--	no
12=13	CPI	--	no	--	no
21	fisalífera	CPI	sí	sí	sí
22	fisalífera	CPI	sí	no	no
44	CPI	--	no	sí?	No
86	fisalífera	CPI	sí	sí	no

TUMORES DE DIFERENCIACIÓN NEURAL

Tabla 42: Características clínicas de los schwannomas y tumores malignos de vaina nerviosa. (pb= partes blandas, h= hueso, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
4	V	26	vértice tórax, extrapleural	--	12Oct
6	M	--	pared tórax, nervio	4x2x1	12Oct
10	V	15	escapular (dérmico)	1X0.8X0.8	12Oct
83	V	49	escápula, brazo(maligno)	8.5x7.5	12Oct

Tabla 43: Características clínicas de los neurotequeomas. (subcut.= subcutáneo, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	PROC.
49	M	12	5º metacarpiano (pb)	5x2	12Oct
80	M	62	antebrazo (subcut)	1	12Oct
81	V	32	ala nasal (subcut)	0.6	12Oct

Tabla 44: Características clínicas de los neurofibromas. (subcut.= subcutáneo, M= mujer, V= varón, PROC= procedencia, 12Oct= casos propios)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZACIÓN	TAMAÑO(cm)	PROC.
30	V	48	occipital (pb)	6x4x3	12Oct
42	V	32	laterocervical (pb)	--	--

Tabla 45: Características ultraestructurales de los schwannomas benignos y malignos

(schwannoma mal), de los neurotequeomas clásicos y celulares y de los neurofibromas (CPI= célula perivascular indeterminada, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, IHQ= estudiado mediante inmunohistoquímica, DIAGNÓST.= diagnóstico, TMVNP= tumor maligno de vaina de nervio periférico).

CASO	C. DGCA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	IHQ	DIAGNÓST
4	Schwann	--	no	no	schwannoma
6	Schwann	--	sí	no	schwannoma
10	schwann	--	--	no	schwannoma
83	schwann indif	miofibroblastos	--	no	TMVNP
49	redonda indif	--	no	sí	neurotequeoma
80	Schwann	--	sí	sí	neurotequeoma
81	fusiforme prim	m. liso	no	sí	celular
30	fibroblasto perin	fusiforme inespecífica	no	no	neurofibroma
42	fibroblasto perin	--	no	no	neurofibroma

MISCELÁNEA

Tabla 46: Características clínicas de miscelánea (M=mujer, V=varón, PROC= procedencia,

12Oct= casos propios, HNJ= hospital Niño Jesús, pb= partes blandas, poobr. Dif= pobremente diferenciado)

CASO	SEXO	EDAD	LOCALIZ	TAMAÑO(cm)	DIAGNÓSTICO	PROC.
3	V	60	cara (piel)	1	siringoma condroide	12Oct
14=15	V	14	hígado	17x13.2x12	sarcoma embrionario	12Oct
88	M	8	adenopatía	5x2.5x1	carcinoma poobr.dif	12Oct
82	V	--	hueso	--	fibromixoma	Salamanca
8	V	34	muslo (pb)	--	no tipificable	12Oct
61	V	4	subcutáneo	2.7x1.3	no tipificable	12Oct
79	M	5	glúteo (pb)	2.5x3	no tipificable	HNJ

Tabla 47: Características ultraestructurales de la miscelánea (CPI= célula perivascular

indeterminada, CPI*= célula perivascular indeterminada con gránulos neurosecretorios, PATRÓN= patrón trabecular perivascular, IHQ= estudiado mediante inmunohistoquímica, DGCO.= diagnóstico, t fibromix c gig= tumor fibromixoides con células gigantes, no tipificable, fibromixoma extr= fibromixoma extragnático).

CASO	C. DGCA	C. SECUNDARIA	PATRÓN	IHQ	DGCO
3	epitelial	mioepitelial	nidos	no	siringoma condr
14	fibroblastos	--	no	no	sarcoma embrion
61	miofibroblastos	--	no	no	t fibromix c gig
79	fibroblasto perin	--		sí (EMA-)	perineuroma?
88	epitelial	--	sí	no	carcinoma
82	miofibroblastos	CPI	no	no	fibromixoma extr
8	CPI*	fibroblastos	sí	sí (S100-)	condrosarcoma?

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN:

A continuación discutiremos cada entidad incluida en la serie, con los hallazgos ultraestructurales observados y comparados con los encontrados en la literatura revisada. En relación tanto con los posibles rasgos ultraestructurales diagnósticos, como con las características comunes entre distintas entidades.

1. TUMORES DERIVADOS DEL TEJIDO ADIPOSO

A) LIPOMA FUSOCELULAR

*Definición*⁶³

Estos tumores se caracterizan por tener tres componentes: 1) adipocitos maduros; 2) células fusiformes uniformes y pequeñas, con citoplasma inespecífico a menudo deshilachado; y 3) colágeno denso intensamente eosinofílico. Estos tres componentes se mezclan en proporciones variables. El lipoma fusocelular puede combinarse con lipoma pleomórfico en la misma neoplasia.

Consideraciones generales

Actualmente, no existe un acuerdo entre los expertos en tumores de tejidos blandos, acerca de si el lipoma pleomórfico es una entidad distinta o forma parte del espectro del lipoma de células fusiformes. Los hallazgos citogenéticos y la clínica sugieren como más probable esta última posibilidad, ya que los lipomas con rasgos pleomórficos que se dan en otras localizaciones que no sean las típicas del lipoma de células fusiformes (hombro, espalda, cuello) presentan cromosomas en anillo supernumerarios, alteración genética rara en los lipomas pleomórficos que se producen en las localizaciones del lipoma de células fusiformes; mientras que los que sí aparecen

en estas zonas, presentan frecuentemente la alteración más frecuente de los lipomas de células fusiformes (16q). Por ello, se suele denominar a los lipomas pleomórficos que aparecen en tejidos blandos profundos y en zonas no típicas de lipoma de células fusiformes como tumores lipomatosos atípicos. Esta opción de nomenclatura además, es la que mejor refleja el comportamiento clínico que presentan estos tumores, que depende de su localización y no de sus características histológicas.

Características clínicas

Como ya hemos apuntado, los lipomas de células fusiformes se suelen localizar en el tejido celular subcutáneo de la región posterior del cuello, el hombro o la región superior de la espalda. Casi siempre son subcutáneos, pero se han descrito algunos casos con rasgos histológicos idénticos en el músculo y otras localizaciones profundas. Algunos autores se refieren a estos tumores como tumores lipomatosos atípicos fusocelulares. Casi todos los pacientes son varones de edad media o avanzada, pero a veces se dan en mujeres o varones más jóvenes. En raras ocasiones pueden ser múltiples o familiares.

Los dos casos que incluye nuestra serie se ajustan a las características típicas descritas en la literatura.

Características macro- y microscópicas

Los lipomas de células fusiformes son tumores bien delimitados con aspecto macroscópico variable, desde adiposo a mixoide. Histológicamente, se observa una mezcla de adipocitos maduros y células fusiformes pequeñas y uniformes, con citoplasma alargado y mal definido; estas últimas pueden encontrarse en el seno de una matriz mixoide. Las células fusiformes pueden contener pequeñas vacuolas

intracitoplasmáticas. En casi todos los casos se observan gruesos haces de colágeno. La proporción de los dos componentes varía de unos casos a otros. Los adipocitos maduros suelen ser más pequeños que los adipocitos maduros del tejido adiposo no neoplásico. En nuestros casos predominaba el componente fusocelular, no se observaron patrones vasculares llamativos, ni hendiduras pseudovasculares. Se incluyeron en el estudio porque en las zonas fusocelulares presentaban matriz mixoide y fueron estas zonas las que se estudiaron ultraestructuralmente.

Técnicas especiales

Las células fusiformes de los lipomas fusocelulares son CD34 positivas⁶⁴ (ver apartado del antígeno CD34) y los adipocitos son S-100 positivos. Las células que revisten las hendiduras pseudovasculares que aparecen en algunos casos no son positivas con marcadores de endotelio. Ya nos hemos referido en un apartado anterior a las alteraciones genéticas más frecuentes en estos tumores.

Características ultraestructurales

Los estudios ultraestructurales están en consonancia con los hallazgos histológicos de una población celular bifásica (células mesenquimales indiferenciadas y adipocitos). Nuestros casos están constituidos por células mesenquimales fusiformes del lobulillo adiposo primitivo (RER bien desarrollado y pocas gotas de grasa) y adipocitos maduros rodeados completamente por lámina externa. La matriz es mixoide inespecífica. En uno de los 3 casos incluidos en nuestra serie, se observaron células mesenquimales indeterminadas (con escasas cisternas de RER y sin gotas de grasa) que formaban pequeñas trabéculas de entre 2 y 4 células, de disposición estrellada y sin uniones estrechas entre ellas. Estas células se encontraban en la proximidad de los

capilares sin establecer contacto con los mismos. En este caso, las células más maduras (miofibroblastos o adipocitos) solían encontrarse aisladas y más alejadas de los vasos. Este patrón se repite en otros tumores de la serie por lo que se describirá y discutirá de forma más detallada, en relación con observaciones similares en la literatura revisada y su posible interpretación. Nos hemos referido genéricamente a ellas como células perivasculares indeterminadas (CPI).

B) LIPOSARCOMA MIXOIDE

Definición

El liposarcoma mixoide es un tumor adiposo de celularidad variable que clásicamente contiene: células lipogénicas en anillo de sello, uniformes y de pequeño tamaño dispuestas en el seno de una matriz mixoide; numerosos capilares ramificados arqueados (patrón plexiforme diagnóstico) y células pequeñas, uniformes, no lipogénicas con escaso citoplasma. También pueden observarse áreas de tejido adiposo maduro⁶³.

Consideraciones generales

Las distintas clasificaciones del liposarcoma suelen contener la categoría de “liposarcoma de células redondas”. Sin embargo, hoy día se acepta que se trata de liposarcomas mixoides con áreas celulares, por lo que se considera al liposarcoma de células redondas parte del espectro de liposarcoma mixoide. Esta teoría está apoyada por la observación de que la misma traslocación cromosómica clonal, t(12; 16) (q13; p11), se encuentra en las células que componen tanto el liposarcoma mixoide como el de células redondas. La utilidad demostrada de mantener la categoría diagnóstica de liposarcoma de células redondas se debe a que llama la atención sobre un tumor que presenta un significativo potencial metastásico (a diferencia de la insignificante

capacidad metastásica del liposarcoma mixoide pobremente celular). Se puede optar por expresarlo simplemente con el término liposarcoma mixoide celular cuando el 25% o más del tumor es celular en vez de mantener una categoría diferente más de liposarcoma. El liposarcoma mixoide totalmente celular (liposarcoma puro de células redondas) puede reconocerse por su homogeneidad celular, el relativamente pequeño tamaño de sus células, la presencia de lipoblastos, generalmente en anillo de sello y frecuentemente, la presencia de zonas periarteriales/perivenosas hipocelulares, pero se trata de una entidad muy rara⁶³. Otro de los criterios diagnósticos útiles más recientemente utilizado es el hallazgo citogenético de la alteración característica del liposarcoma mixoide/liposarcoma de células redondas que lo distingue de otras variantes de liposarcoma con cambio mixoide o de los tipos combinados⁶⁵.

Características clínicas

Es un tumor que suele encontrarse en la edad media, con un pico de incidencia en la quinta década; raras veces se observa en menores de 20 años. Shmookler y Enzinger⁶⁶ han publicado unos pocos ejemplos en niños y adolescentes pero todos estos pacientes excepto uno eran mayores de 10 años; se ha publicado un caso de un bebé de 7 meses con un liposarcoma de células redondas. Con mucho, la localización más frecuente del liposarcoma mixoide es la pierna, aunque la región poplítea, la ingle y los glúteos también son localizaciones frecuentes. El liposarcoma mixoide es característicamente infrecuente en otras localizaciones^{67, 68, 69}, incluido el retroperitoneo. Nuestros casos presentan una distribución por edades y por localización similar a la de la literatura excepto en 2 casos, 1 de ellos localizado en tejido celular subcutáneo y otro (11,1%) de localización retroperitoneal, hemos revisado su histología descartando que se trate de un liposarcoma desdiferenciado con zonas de tipo mixofibrosarcoma⁷⁰, entidad

recientemente reconocida que tiene un curso clínico más parecido al liposarcoma bien diferenciado (entidad de la que se incluye un caso en el apartado anterior) que al liposarcoma mixoide. Casi todos los ejemplos se originan en el tejido muscular u otros tejidos blandos profundos, siendo extraordinariamente infrecuente la afectación del tejido subcutáneo. Su evolución suele ser indolente, aunque se han descrito casos de comportamiento agresivo⁷¹.

Características macro y microscópicas

El liposarcoma mixoide es típicamente bien delimitado macroscópicamente y en la mayoría de los casos presenta una superficie de corte lisa con un color amarillento. Suele ser lobulado. Las áreas celulares pueden tener un aspecto carnososo de tipo sarcoma mientras que las zonas con aspecto claramente adiposo parecen tejido adiposo maduro convencional.

El bien conocido y característico patrón histológico del liposarcoma mixoide pobremente celular es el que incluye células con escaso citoplasma, uniformes, dispuestas con cierta separación entre ellas que contienen numerosos capilares dispuestos con un patrón plexiforme. Dispersas entre estas células se encuentra un número variable de células con una o más vacuolas claras que a menudo distorsionan y desplazan el pequeño núcleo a un lado de la célula. Se trata de lipoblastos en anillo de sello que se distinguen de los adipocitos maduros por su pequeño tamaño. Algunas veces los lipoblastos presentan un núcleo central distorsionado y deformado por las vacuolas grasas. No son frecuentes las figuras de mitosis.

El grado de celularidad varía desde el patrón clásico a los liposarcomas celulares (de células redondas) o hasta los celulares puros (de células redondas puros). La tasa de metástasis se relaciona con la proporción de tumor celular y es especialmente elevada

cuando la proporción es del 25% o superior, por lo que se utiliza esta cifra como punto de corte para definir el liposarcoma mixoide celular. Las áreas con elevada celularidad pueden ser focales, por lo que es muy importante un muestreo exhaustivo y cuando se encuentren zonas celulares pero en menor proporción del 25% debe hacerse notar en el informe anatomopatológico con una advertencia sobre el posible aumento del potencial metastásico. Cuando el tumor es más celular los núcleos son más grandes y con cromatina más grosera, pero siguen siendo uniformes. Los lipoblastos en anillo de sello son las células diagnósticas que identifican un tumor celular como un liposarcoma mixoide. Las mitosis suelen ser más abundantes en los tumores celulares y el patrón vascular plexiforme no es claramente visible en las zonas celulares.

Un hallazgo característico en relación con los vasos en el liposarcoma mixoide, además de la red capilar plexiforme, es la presencia de zonas hipocelulares alrededor de las pequeñas arterias o venas. Lo que puede resultar la contrapartida histológica del hallazgo ultraestructural de las pequeñas trabéculas de prelipoblastos a cierta distancia de los vasos capilares, que observamos en nuestros casos y también están descritos en la literatura.

Histológicamente, el 80% de nuestros casos fueron celulares (4/5 de los que se pudieron revisar las características histológicas exactas). Esta proporción es algo superior a la descrita en la literatura, lo que puede deberse a que se trata de una serie para diagnóstico ultraestructural y puede que estos casos se incluyeran con más frecuencia dada su mayor dificultad diagnóstica. En dos de los casos se observó el patrón descrito en la literatura de edema pulmonar y uno de ellos presentaba zonas bien diferenciadas de tipo lipoma. Por otro lado, todos los casos presentaban como patrón predominante el típico descrito con el patrón vascular diagnóstico, observándose tanto lipoblastos en anillo de sello (univacuolados) como lipoblastos multivacuolados. Por

ello, al ajustarse al patrón histológico diagnóstico descrito en la literatura, a pesar de la localización infrecuente de alguno de los casos, el diagnóstico era claro y no se realizaron técnicas de inmunohistoquímica.

Técnicas especiales

La mayoría de los liposarcomas mixoides publicados estudiados con técnicas citogenéticas presentan una traslocación que afecta al brazo largo del cromosoma 12 y al brazo corto del cromosoma 16, $t(12;16)(q13;p11)^{63}$. Los tumores sin esta aberración cromosómica específica suelen presentar algún otro tipo de traslocación que afecta a estos dos cromosomas. Además de la traslocación 12;16, en varios tumores se ha observado trisomía 8 y algunos presentan una traslocación $t(12;22)$ con fusión EWS/CHOP. No se ha identificado ninguna diferencia clínica ni histológica entre estos subgrupos genéticos moleculares^{72, 73, 74, 75}. Los lipoblastos suelen ser S100 positivos y algunas de las células sin vacuolas grasas también. Se han realizado estudios citogenéticos en otros tumores de tejido adiposo, como los lipomas condroides, concluyéndose que esta técnica podría ser útil en el diagnóstico diferencial de estos tumores⁷⁶. También se han analizado las características de los liposarcomas mixoides mediante reorganización de zonas nucleolares (AgNOR)⁷⁷.

Para el diagnóstico de nuestros casos no se realizaron técnicas de inmunohistoquímica, ni de biología molecular ya que el patrón histológico era diagnóstico, así como los hallazgos ultraestructurales.

Características ultraestructurales

Estos tumores se definen como proliferaciones de prelipoblastos, en cantidades variables, y lipoblastos: con pocas gotas lipídicas o en anillo de sello, que son las

células diagnósticas^{34, 78}. El rasgo más característico es la presencia de células con abundantes partículas de glucógeno y gotas de grasa. Las partículas de glucógeno tienden a agruparse en la periferia de las gotas de grasa. Pocas veces se observa escasez o ausencia de gotas de grasa. Otras células contienen múltiples vacuolas irregulares y dilatadas con material fibrilar en su interior (vimentina (filamentos de 60 Å)). Algunas vacuolas se localizan adyacentes a la membrana plasmática, provocando que esta adopte una forma irregular. El número de gotas de grasa es variable de célula a célula. Los capilares están revestidos por células endoteliales muy activas con muchas vesículas pinocíticas, pero no se observa transporte entre los capilares y las células neoplásicas⁷⁸.

La imagen ultraestructural es diagnóstica de liposarcoma en nuestros casos, en el sentido en que lo distingue del resto de las entidades estudiadas. Se trata de CPI y/o prelipoblastos en pequeñas trabéculas perivasculares asociados a lipoblastos con mayor cantidad de grasa más alejados de los vasos, entre ambos tipos celulares se observan células con características intermedias entre ambos.

Clásicamente se describía la presencia de lámina externa, pero en realidad se trata de una condensación de la matriz mixoide (mucopolisacáridos y ácido hialurónico).

Ocasionalmente, se observan uniones rudimentarias. Se han descrito algunas características ultraestructurales en casos aislados que no son diagnósticas ni específicas, como por ejemplo, inclusiones cristalinas intracitoplasmáticas⁷⁹. Según Enzinger⁸⁰, los fibroblastos con gran cantidad de RER, de Golgi y de filamentos (células secretoras) son los responsables de la producción de la abundante matriz mixoide.

En cuanto a los liposarcomas de células redondas, se han descritos casos con abundantes mitocondrias y agregados de partículas de glucógeno, mientras que otros trabajos observan que las células que los constituyen son células primitivas sin diferenciación lipoblástica. Ultraestructuralmente, se identifican otros elementos

celulares propios de los liposarcomas mixoides. Se trata de casos con una mayor proporción de células mesenquimales indiferenciadas (prelipoblastos), que se agrupan en pequeñas trabéculas en torno a los capilares, tal y como observamos en nuestros casos⁷⁸. Estas células presentan una morfología alargada con pequeñas prolongaciones y escasas organelas citoplasmáticas (muy pocos filamentos y alguna cisterna de RER) que se agrupan en pequeñas trabéculas de dos a cuatro células (igual que en el caso del lipoma atípico) muy cerca de los capilares pero sin contactar con los mismos y sin uniones entre ellas. En la literatura se encuentran descripciones de células similares, como por ejemplo los prelipoblastos (que contienen además escasas gotas de grasa). Se trata de células que en nuestra serie se observan en distintos tipos neoplásicos y las denominamos genéricamente células perivasculares indeterminadas (CPI).

El estudio ultraestructural es muy útil para realizar el diagnóstico diferencial de esta entidad con: el lipoblastoma^{20, 33, 81}; el mixofibrosarcoma^{42, 82}; o el mixoma intramuscular^{29, 83}. Entre nuestros casos no hay ningún lipoblastoma (no hay casos infantiles), ni ningún lipoma condroide.

Los estudios clásicos que definen las características ultraestructurales de los liposarcomas mixoides, advierten la similitud que existe con el tejido adiposo en desarrollo como veremos a continuación.

Origen y desarrollo del tejido adiposo

Hace un siglo se creía que el tejido adiposo era sólo el tejido conjuntivo convencional en el que se depositaba grasa. Otros autores mantenían que el tejido adiposo derivaba de células mesenquimales especializadas diferentes del tejido conjuntivo, mientras que otros creían que el tejido adiposo se originaba a partir de células retículoendoteliales especiales localizadas alrededor de los vasos sanguíneos con

estructuras y funciones específicas distintas de las de los fibroblastos. Esta afirmación también está sujeta a controversia, ahora que se ha demostrado que las células más indiferenciadas que rodean habitualmente a los vasos son las células de origen de fibroblastos y miofibroblastos en las heridas en cicatrización. Existe un acuerdo general, sin embargo, en que el tejido adiposo maduro y la grasa parda son cosas distintas en la mayoría de los mamíferos. Aunque existe aún cierta polémica acerca de que esto sea exactamente así en el hombre⁷⁸.

El primer estudio experimental sobre el desarrollo del tejido adiposo fue llevado a cabo por Napolitano^{49, 84} en un experimento en el que utilizaban ratas recién nacidas y ratas jóvenes para analizar el proceso de desarrollo del tejido adiposo normal. Las células precursoras de la grasa se identifican como fibroblastos fusiformes con prolongaciones largas y finas y mucho RE. Gradualmente, se acumulan lípidos sin membrana, disminuye la cantidad de RE y cambia la forma de las mitocondrias. A mitad del desarrollo aparecen pequeñas cantidades de glucógeno y vesículas de pinocitosis. En la etapa multilocular, se diferencia de la grasa parda por las mitocondrias y los sistemas citoplasmáticos de membrana. No se constata transporte de lípidos desde capilares a células, pero sí se observan lípidos sin membrana en las células endoteliales.

Dickersin y Battifora^{33, 50}, en estudios posteriores de neoplasias de tejido adiposo, observan que los liposarcomas mixoides presentan características ultraestructurales que remedan el desarrollo embrionario del tejido adiposo. Según Battifora, se observan desde células indiferenciadas a lipoblastos típicos uni- o multivacuolados. Además se observa una célula neoplásica de tipo secretor con abundantes cisternas de RER dilatadas y células intermedias que contienen tanto productos de secreción como lípidos. Un rasgo característico es la relación espacial entre las células y los capilares: las células indiferenciadas tienen prolongaciones con tendencia a rodear los vasos. Estas

células son similares a las que nosotros describimos como CPI y que encontramos en otros tipos tumorales de la serie con un patrón de distribución idéntico. Estas células aumentan de tamaño y se diferencian según se separan de la lámina externa de los capilares (rasgo que también se observa en nuestros casos, así que como la aparición de células intermedias). Las mitosis se observan cerca de los vasos. Observa además lipoblastos de tipo grasa parda y lipoblastos de tipo grasa blanca (uni- o multiloculares, como las etapas del desarrollo del tejido adiposo).

Otro de los autores que trata de esta similitud es Hang ZB y cols.⁸⁵, en cuyo estudio se incluyen 9 liposarcomas de distintos tipos (5 mixoides, 3 pleomórficos y 1 bien diferenciado). Este estudio comparativo muestra similitudes entre las células del liposarcoma y las del tejido adiposo en desarrollo. Las células del liposarcoma también parecen células mesenquimales primitivas; se observan además fibroblastos, lipoblastos y adipocitos maduros. Estos autores diferencian las células neoplásicas del tejido adiposo en desarrollo por: la atipia celular (en lipoblastos mono- o multinucleados) y por el predominio de ciertos tipos de lipoblastos en distintos tipos de liposarcoma, otros autores añaden que en el tejido adiposo en desarrollo no se observan ni filamentos de vimentina ni las grandes masas de glucógeno que se observan en el liposarcoma²⁰. Otro de los hallazgos ultraestructurales de este estudio⁸⁵ que coincide con los nuestros es la transición de fibroblastos y células mesenquimales primitivas a lipoblastos, por la que estos autores concluyen que éstos pueden derivar de cualquiera de estas dos células. López-Gines y cols.⁸⁶ describen un caso de liposarcoma mixoide en el que observan continuidad estrecha entre las células tumorales y pericitos atípicos, es decir, células con escasas organelas, filamentos intracitoplasmáticos y distribución perivascular (ver más adelante la descripción detallada de los pericitos).

En un estudio comparativo ultraestructural de lipoblastoma y liposarcoma mixoide⁸¹, también se describe este patrón de adquisición de grasa (maduración) centrífuga a partir de los vasos. Estos autores observan que el proceso de lipogénesis neoplásica es similar a la del tejido adiposo en desarrollo. El lipoblastoma remeda grasa en desarrollo mientras que el liposarcoma simula la zona proliferante del tejido embrionario. La hipótesis que proponen estos autores es que el pericito vascular es la fuente de las nuevas células de depósito de grasa, pero en nuestros casos las células que observamos en relación con los vasos no presentan similitudes ultraestructurales con las descripciones clásicas de los pericitos tal y como veremos más adelante.

En conclusión, parece que el liposarcoma deriva de una población celular en división del mesénquima perivascular igual que el tejido adiposo en desarrollo. Nuestros hallazgos también sugieren esta hipótesis. La cuestión más llamativa es que en nuestro análisis hemos observado este mismo patrón de distribución celular y de maduración en otros muchos tipos de neoplasias con matriz mixoide. Ante ello, nos planteamos si, paralelamente, el origen de las neoplasias mixoides de los tejidos blandos remeda el desarrollo del tejido conjuntivo, como discutiremos más adelante en relación con el estudio histogenético.

Recientemente se han publicado estudios experimentales sobre el desarrollo del tejido adiposo y la célula mesenquimal de origen⁸⁷.

Antígeno CD34

El hecho de que en los lipomas de células fusiformes y en los liposarcomas desdiferenciados este antígeno tiña las células fusiformes a las que la mayoría de los autores se refieren como células mesenquimales indiferenciadas, hace que analicemos

en mayor detalle qué células tiñe este antígeno y si éstas tienen alguna relación con las CPI encontradas en este estudio.

Se ha demostrado recientemente positividad para este antígeno de células progenitoras hematopoyéticas humanas en varios tejidos no hematopoyéticos y sus contrapartidas neoplásicas, incluyendo el endotelio vascular, las células fibroblásticas dendríticas intersticiales, las células endoneurales, así como células neoplásicas como el sarcoma de Kaposi que se han descrito en algún estudio ultraestructural como células intermedias con diferenciación entre endotelial y muscular lisa⁸⁸, el dermatofibrosarcoma protuberans, el sarcoma epitelioides, los tumores del estroma gastrointestinal y los tumores fibrosos solitarios. También se ha afirmado que los adipocitos normales son positivos con este anticuerpo. Suster y Fisher analizan una serie de 90 lesiones lipomatosas para estudiar la reactividad de las neoplasias de diferenciación adiposa con este anticuerpo. Este estudio incluye 14 lipomas, 19 angioliomas, 4 lipomas atípicos, 18 lipomas fusocelulares, 3 angiomioliomas renales, 1 lipoma intramuscular y 31 liposarcomas⁶⁴.

En todos los lipomas, angioliomas, angiomioliomas, lipoma intramuscular y liposarcoma bien diferenciado de tipo lipoma se identificó una red de células fusiformes mezcladas con el tejido adiposo positivas para CD34. En los lipomas fusocelulares, el componente fusocelular resultó fuertemente positivo. Las células estrelladas atípicas y las células “en florete” de los lipomas atípicos y 6 de los 12 casos de liposarcoma bien diferenciado de tipo lipoma de tejidos blandos profundos también fueron positivos. En todos los casos de liposarcoma mixoide y en un caso de liposarcoma de células redondas, además de en el componente sarcomatoso de un liposarcoma dediferenciado, se encontraron células aisladas fuertemente positivas.

Resultaron constantemente negativas las células redondas de los liposarcomas mixoides y los liposarcomas de células redondas, los lipoblastos en anillo de sello y multivacuolados en el liposarcoma bien diferenciado y las células pleomórficas de los liposarcomas pleomórficos.

Los resultados de este estudio parecen indicar que los tumores lipomatosos albergan una población de células fusiformes dendríticas intersticiales CD34 positivas. El sobrecrecimiento o la expansión clonal de esta subpoblación celular puede ser la responsable del desarrollo de los lipomas de células fusiformes y del componente fusocelular de algunos casos de liposarcoma dediferenciado⁸⁹.

En cualquier caso, no se observa una relación directa de estas células con las indeterminadas observadas en este estudio, a pesar, de que este antígeno es característico de una población de células pluripotenciales de la médula ósea.

2. TUMORES FIBROBLÁSTICOS/MIOFIBROBLÁSTICOS.

A. FASCITIS NODULAR

Del caso incluido en la serie y los otros dos casos anulados porque en el estudio ultraestructural no se encontraron zonas mixoides, podemos concluir, comparando con los estudios en la literatura⁹⁰ que las fascitis nodulares tienen una imagen ultraestructural típica y constante, constituida por una proliferación ordenada de miofibroblastos con más o menos matriz extracelular que contiene haces desordenados de colágeno.

B. FIBROBLASTOMA DESMOPLÁSICO⁹¹

Definición

Se trata de un tumor poco frecuente, pobremente celular que suele afectar a varones adultos y se caracteriza por un estroma densamente colagenizado en el que se observan fibroblastos estrellados sin atipia. Puede observarse estroma mixoide. También se denomina fibroma colagenoso.

Características clínicas

Clínicamente es más frecuente en varones entre la quinta y la séptima década siendo raro en adolescentes, mientras que el caso que se incluye en esta serie corresponde a un niño de 13 años. Suelen localizarse en el tejido subcutáneo en localizaciones variables, entre las que se encuentra descrita la del caso incluido. Su comportamiento biológico es benigno.

Características macroscópicas, microscópicas y técnicas especiales.

Las características macroscópicas y microscópicas del caso incluido son similares a las descritas para esta entidad en la literatura: se trata de tumores bien delimitados macroscópicamente, de aspecto cartilaginoso (firmes y grisáceos) que suelen ser pequeños, constituidos histológicamente por un estroma colágeno desmoplásico en el que se observan fibroblastos y miofibroblastos estrellados de núcleos hinchados y sin atipia.

Se ha descrito en la literatura el cambio mixoide del estroma. En nuestro caso este cambio es focal, pero es de estas zonas, de donde se realizó el muestreo ultraestructural.

Este tumor se diferencia histológicamente del tumor desmoide por su hipocelularidad, la ausencia de patrón fascicular, el predominio de estroma colagenoso amorfo y la vascularización poco llamativa.

Inmunohistoquímicamente son positivos para vimentina y actina muscular lisa, se han descrito casos aislados con positividad para queratinas. Nuestro caso no tiene estudio inmunohistoquímico.

En dos casos publicados, se han descrito alteraciones citogenéticas en la región 11q12. En un caso de fibroma de vainas se observó una traslocación idéntica 2;11.

Características ultraestructurales

Las características ultraestructurales del caso incluido se corresponden con las descritas en la literatura, los hallazgos son inespecíficos y superponibles a los histológicos y, por tanto, no son diagnósticos. En nuestro caso se observó distribución trabecular de las células que se encontraban en distintos estadios madurativos; se confirma que se trata de un tumor de estirpe fibroblástica/miofibroblástica. No se puede

extraer ninguna conclusión respecto a la relación de las células con los vasos porque se trata de una lesión muy poco vascularizada.

C. MIOFIBROBLASTOMA⁹²

Definición

Se trata de una neoplasia mesenquimal benigna constituida por células fusiformes de características miofibroblásticas en el seno de un estroma que contiene bandas gruesas de colágeno hialinizado y abundantes mastocitos mezclados con una cantidad variable de tejido adiposo.

Características clínicas

La localización típica es la mama masculina (como nuestro caso), pero se están empezando a describir casos en otras localizaciones, con cierta tendencia a aproximarse a la “línea láctea” anatómica, desde al axila a la ingle, donde suelen ser hallazgos incidentales no dolorosos.

Características macroscópicas e microscópicas

Son nódulos bien delimitados macroscópicamente que muestran una superficie de corte de aspecto variable entre fascicular a mucoide tal y como se manifestaba en nuestro caso, reflejando así el cambio mixoide del estroma.

Histológicamente se trata de tumores constituidos por una mezcla de tejido adiposo y fascículos de células fusiformes correspondientes a miofibroblastos.

Nuestro caso presentaba ocasionales zonas de matriz laxa de las que se tomaron muestras para el estudio ultraestructural.

Características ultraestructurales

También en este caso la imagen ultraestructural es inespecífica. Se observan células con diferenciación miofibroblástica en el seno de una matriz variable, mixoide. No se identifican patrones de distribución específicos respecto a los vasos, ni se han encontrado en la literatura descripciones de imágenes ultraestructurales específicas o características.

D. MIXOFIBROSARCOMAS

Definición y consideraciones generales

En el momento actual el término mixofibrosarcoma se refiere a un tumor mesenquimal de matriz mixoide de patrón lobulado con una rica trama capilar de disposición curvilínea⁵⁵. Se trata de una entidad distintiva y con un amplio espectro de grado histológico. Los tumores de alto grado, en el extremo pobremente diferenciado del espectro, presentan rasgos similares a los del fibrohistiocitoma maligno pleomórfico por su celularidad, atipia y pleomorfismo y por ello se incluían en la clasificación de cinco tipos morfológicos de fibrohistiocitoma maligno de Enzinger⁵⁶ como fibrohistiocitoma maligno mixoide. Hoy se tiende a equiparar mixofibrosarcoma con fibrohistiocitoma maligno mixoide con distintos grados histológicos.

Además se encuentra en entredicho la relación entre los subtipos de fibrohistiocitoma maligno, puesto que hay trabajos que sugieren que se trate de un fenotipo neoplásico de orígenes variados^{55, 61}

Características clínicas

Clínicamente afecta principalmente a adultos en las décadas 6ª a 8ª de la vida, aunque el rango de aparición es muy amplio (En nuestros casos entre los 29 y los 78 años). Existe mayor frecuencia de aparición en varones, sin embargo, en ningún estudio en la literatura ni en el análisis realizado por nosotros (a pesar de ser mayor (10:3)) esta diferencia es significativa. La localización más frecuente es en las partes blandas de las extremidades (50% de nuestros casos). En la serie más larga de mixofibrosarcomas en la literatura la localización más frecuente es superficial (cerca del 70% de los casos son dérmicos o subcutáneos)⁶¹ la mayoría en la extremidad inferior. Sin embargo, en las series de Weiss y Enzinger respecto al fibrohistiocitoma maligno en general y a su variante mixoide en particular^{93, 94, 95} la mayor parte de los casos son de localización profunda (infiltrando músculo o fascia) y sólo un 7% son exclusivamente subcutáneos. Un pequeño porcentaje de casos se localizaba en cavidad abdominal o en retroperitoneo. En esta última localización se recomienda descartar siempre la posibilidad de que se trate de la zona desdiferenciada de un liposarcoma, mucho más frecuente en esta localización. En el caso retroperitoneal de nuestra serie, tras un exhaustivo muestreo y seriación de la pieza no se encontraron áreas adiposas.

Características macroscópicas

Los tumores que se localizan superficialmente están constituidos por múltiples nódulos de consistencia variable entre gelatinosa y algo más firme, mientras que los que se localizan más profundamente suelen estar compuestos por una masa tumoral única de borde infiltrante. Las lesiones de alto grado pueden presentar zonas de necrosis tumoral.

Características microscópicas e inmunohistoquímicas

Histológicamente, independientemente de su grado histológico, los mixofibrosarcomas comparten: áreas hipocelulares que contienen vasos capilares finos y curvilíneos y células fusiformes y estrelladas pleomórficas y atípicas con ocasionales vacuolas citoplasmáticas (seudolipoblastos) que corresponden a mucina y no a grasa^{55, 94, 96}.

El inmunofenotipo es en general bastante inespecífico siendo solamente constante la positividad para vimentina. Con el cuadro histológico característico no son necesarios estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales para el diagnóstico.

Características citogenéticas

Se han detectado aberraciones citogenéticas⁹⁷ en 25 casos diagnosticados de mixofibrosarcomas y fibrohistiocitomas malignos mixoides. En general, tienden a presentar cariotipos muy complejos, con mucha heterogeneidad intratumoral y con un número de cromosomas entre triploides y tetraploides en la mayoría de los casos. No se ha descrito una alteración cromosómica específica, pero 5 casos presentaban cromosomas en anillo que, en uno de los casos se originaba de 20q. Los desequilibrios genómicos detectados con hibridación genómica comparativa solían incluir pérdidas de 6p y ganancias de 9q y 12q.

Características ultraestructurales

Los estudios ultraestructurales del fibrohistiocitoma maligno y del mixofibrosarcoma lo describen como un tumor constituido por una población celular heterogénea en la que se identifican hasta 7 tipos celulares diferentes^{19, 28, 35, 36, 42, 98, 99, 100, 101, 102, 103} (- células indiferenciadas (10-62%): células relativamente pequeñas

y con escaso citoplasma; - células de tipo histiocítico (8-69%): caracterizadas por la presencia de prolongaciones filopódicas y abundante citoplasma que contiene lisosomas, fagolisosomas y gotas lipídicas; - células de tipo fibroblástico (0.9-26%): células con un RER bastante desarrollado dispuestas en haces y que cuando presentan miofilamentos con cuerpos densos se interpretan como miofibroblastos; - células de tipo miofibroblástico (0-22%); - células intermedias histiocítica-fibroblásticas (1-41%); - células gigantes multinucleadas (0-1%) derivadas del tipo fibroblástico o del tipo histiocítico; - y células xantomatosas (0-1%). Los elementos histiocitoides son más frecuentes a medida que los tumores se hacen de mayor grado histológico. En nuestros casos el patrón predominante era de células fibroblásticas y miofibroblásticas dado que siempre se eligieron para el estudio ultraestructural áreas de evidente matriz mixoide que suelen corresponder a las zonas de bajo grado histológico. Más adelante discutiremos la relación existente entre estos dos tipos celulares

Es interesante observar que en 5 de nuestros casos se encontraban trabéculas de células indeterminadas de localización perivascular. Se han encontrado descripciones en la literatura de elementos celulares similares a los que se denominan células indefinidas¹⁰⁰. En dos de nuestros casos las únicas células encontradas a nivel ultraestructural fueron de este tipo. En los cortes semifinos se observó que las zonas incluidas para estudio ultraestructural mostraban una histología inespecífica en las que no se observaban las características diagnósticas de mixofibrosarcoma. Ambos casos eran de bajo grado. También se ha observado una disposición especial con relación a los vasos, en fibrohistiocitomas malignos de tipo estoriforme¹⁰⁴, en los que todas las áreas estoriformes estaban centradas por un pequeño capilar, hallazgo similar a lo observado en nuestros casos, en los que en lugar de fibroblastos observamos células indeterminadas. Estas células son prácticamente idénticas a las que se encuentran en

tumores tales como el paracordoma o el condrosarcoma mixoide de partes blandas y muy similares a los prelipoblastos descritos en los liposarcomas mixoides. Más adelante se discutirá la interpretación que damos a estos hallazgos.

Uno de los casos de nuestra serie mostraba exclusivamente células mesenquimales sin datos diferenciales específicos pero se trataba de un tumor de alto grado en el que el estudio ultraestructural se hizo sobre zonas poco diferenciadas. Un caso similar a este se encuentra en la literatura¹⁷, pero se trata de un fibrohistiocitoma maligno no mixoide.

Los tipos celulares invariablemente presentes en todas las series de estudios ultraestructurales de fibrohistiocitomas malignos son: las *células mesenquimales indiferenciadas*; *células de tipo fibroblástico-miofibroblástico*; *células de tipo histiocítico*; y *células mixtas* con características comunes a estos dos últimos tipos .

De los hallazgos ultraestructurales observados en largas series con distintos tipos de fibrohistiocitomas malignos, se deduce:

- que no existen diferencias relevantes entre distintas zonas del mismo tumor,
- que no existen diferencias de composición significativas entre los tipos más frecuentes (estoriforme y mixoide) y
- que la heterogeneidad celular puede deberse a que el origen del tumor es una célula mesenquimal indiferenciada con capacidad para diferenciarse en varias líneas celulares, fundamentalmente dos (de aspecto fibroblástico-miofibroblástico, y de aspecto histiocítico). El origen común de estas líneas se demostraría por la existencia de formas mixtas y porque mediante el análisis de bandas se identifican marcadores cromosómicos idénticos en ambas¹⁰⁵. Hoy día la mayor parte de los autores atribuyen el aspecto histiocítico de las células a un estado morfológico de la célula mesenquimal en el que se puede observar fagocitosis y no a una determinada estirpe celular. Los estudios genéticos localizan la línea fibroblástica en la región hipotriploide del histograma y la

línea histiocítica en la región pentaheptaploide, por lo que explican la aparición de este fenotipo celular como una consecuencia de la progresión cromosómica neoplásica¹⁰⁵. En algunas series se postula además que el origen de la célula precursora es la desdiferenciación de una célula propia del tejido conjuntivo (fibroblastos o pericitos, en este último caso se explicaría la relación con los vasos que se observa en algunos casos)³⁶. Otros autores¹⁰⁶ han demostrado una relación de las células del fibrohistiocitoma maligno y del liposarcoma con fibroblastos y células perivasculares mesenquimales de tejidos normales, mediante técnicas de inmunohistoquímica usando dos anticuerpos monoclonales (FU3, FU4) desarrollados a partir de líneas celulares de fibrohistiocitoma maligno. Estudios de inmunoultraestructura demostraron la presencia de estos anticuerpos en la membrana celular de fibroblastos y células mesenquimales perivasculares, sin embargo, los macrófagos, monocitos y células circulantes sanguíneas fueron negativos. De estos estudios se extraen dos consecuencias: que los fibrohistiocitomas malignos no derivan de histiocitos, y que presentan más relación con fibroblastos y células mesenquimales perivasculares, lo que podría estar en relación con la disposición característica en torno a los vasos, descrita en la literatura y que nosotros también observamos en estos casos y en otros tipos de tumor como se describirá más adelante.

Un último aspecto interesante a señalar en nuestra casuística es que en un caso algunos elementos adoptaban aspecto de leiomiocitos lo que sugiere, al igual que en otros tipos de tumores como el angiomixoma agresivo, una estrecha relación entre fibroblastos y células de músculo liso, pudiéndose considerar como un estadio intermedio de diferenciación entre ambos al miofibroblasto. En la serie de Roholl y cols.¹⁰⁷, 15 de 22 fibrohistiocitomas malignos eran positivos para marcadores de músculo liso (HHF35, actina muscular lisa α y γ , desmina) por lo que apoyaban la

hipótesis de que algunos de estos tumores fueran en realidad leiomiomas pobremente diferenciados. Esta cuestión se ha desarrollado en gran cantidad de trabajos experimentales sobre animales, y en estudios ultraestructurales y bioquímicos sobre tejidos normales, neoplasias y alteraciones pseudoneoplásicas en los que la célula característica es el miofibroblasto. Analizando el origen de esta célula y las situaciones en las que se encuentra, se ha llegado a establecer la relación que presenta como paso intermedio entre el fibroblasto y el músculo liso. El hecho de que esta célula se encuentre en gran cantidad de tumores mesenquimales y de que su modelo de diferenciación pueda darnos una clave para entender algunos de los resultados obtenidos en esta serie, nos hace referirnos en capítulo aparte al miofibroblasto y su relación con el fibroblasto y el músculo liso (ver más adelante apartado de “Miofibroblastos”).

En la literatura se encuentran casos aislados de fibrohistiocitomas malignos con características ultraestructurales peculiares que no se han repetido en nuestra serie, tales como inclusiones nucleares constituidas por fibrillas onduladas de 18-23 nanómetros¹⁰⁸, gránulos de células de Langerhans en un fibrohistiocitoma maligno postradioterapia¹⁰⁹ o diferenciación epitelial¹¹⁰.

Otra imagen ultraestructural descrita como característica de esta entidad y que también nosotros observamos en algunos casos es la presencia de células con prolongaciones largas en cuya superficie se condensa un material floculento sin que se observe membrana basal⁹⁸.

En resumen, de nuestros hallazgos se deduce:

- Que los mixofibrosarcomas no son histiocitarios, sino que son tumores de fibroblastos y/o miofibroblastos pero que con gran frecuencia muestran trabéculas de células indeterminadas perivasculares. Estas células son equivalentes a otras observadas en series anteriores, pero en ninguna de ellas se describe su relación con los vasos y su

peculiar distribución en trabéculas que sólo se observa en la variedad mixoide. En nuestros casos se observan menos frecuentemente las células descritas en la literatura como de tipo histiocitario y células gigantes multinucleadas, que son más características de tumores de alto grado.

- El hallazgo de diferenciación hacia músculo liso en uno de nuestros casos, no es más que un reflejo de la relación que existe entre fibroblasto-miofibroblasto-músculo liso, según la literatura revisada y que comentamos a continuación en los “Proliferaciones de miofibroblastos”.

E. SARCOMAS FIBROMIXOIDES DE BAJO GRADO.

Definición y consideraciones generales

Se trata de un tipo de fibrosarcoma que se caracteriza por la mezcla de zonas mixoides con zonas intensamente colagenizadas, con células fusiformes prácticamente sin atipia formando remolinos y arcadas curvilíneas de vasos sanguíneos.

Se trata de un tumor de adultos jóvenes que suele localizarse en partes blandas profundas del hombro o de la extremidad inferior aunque se han descrito en localizaciones diversas. La mayoría afectan a músculo esquelético y tienden a ser grandes (9-10cm).

Características macroscópicas y microscópicas

Son bien circunscritos aunque focalmente infiltrantes.

Los patrones característicos del tumor son la presencia de fascículos cortos y remolinos, siendo estos últimos más aparentes en las zonas de transición entre las zonas colagenizadas y las mixoides. La vascularización de estos tumores está constituida tanto por arcadas de pequeños vasos como por vasos de tamaño arteriolar con esclerosis

perivascular. Las células tienen muy poca atipia, observándose sólo ocasionales células hipercromáticas. Las figuras de mitosis son muy pocas.

Aproximadamente el 10% de los casos presenta zonas hipercelulares con atipia nuclear similares a las que se observan en los fibrosarcomas de grado intermedio de tipo habitual.

En nuestra serie se trata de dos tumores de localización profunda (mediastino y retroperitoneo). Histológicamente se caracterizan por una mezcla de tejido fibroso y mixoide, ambos hipocelulares, y constituidos por células fusiformes sin atipia⁵⁵. No presentaban zonas de hipercelularidad ni rosetas hialinizantes.

Características inmunohistoquímicas

Estos tumores, de forma típica, expresan positividad exclusiva para vimentina, lo que indica diferenciación fibroblástica. A veces se han observado rasgos de diferenciación miofibroblástica en forma de expresión focal de actina muscular lisa (más adelante se comentará extensamente la relación entre estas líneas de diferenciación, ver apartado de Miofibroblastos). No suelen expresar positividad para desmina, proteína S100, citoqueratinas, EMA, ni CD34.

Características citogenéticas

Sólo se han publicado 3 casos de aberraciones cromosómicas: uno con una traslocación equilibrada y 2 con cromosomas en anillo supernumerarios, en uno de estos casos, se demostró mediante hibridación genómica comparativa que el material del cromosoma en anillo procedía de los cromosomas 7 y 16. Los cromosomas en anillo se han encontrado en muchos otros tipos tumorales incluidos los mixofibrosarcomas¹¹¹.

Características ultraestructurales

Las descripciones ultraestructurales de estos tumores en la literatura muestran casi exclusivamente diferenciación fibroblástica en todas las variantes. Los hallazgos ultraestructurales de los sarcomas fibromixoides de bajo grado estudiados, son superponibles a los de los mixofibrosarcomas, sobre todo aquellos de bajo grado. Se trataría también de tumores fibroblásticos-miofibroblásticos en los que se pueden observar células perivasculares indeterminadas de disposición trabecular perivascular, por lo que el diagnóstico diferencial de las dos entidades se realiza por sus características clínicas e histológicas ya que ultraestructuralmente pertenecen al mismo grupo morfológico.

MIOFIBROBLASTOS.

Es interesante, por otro lado profundizar en las características especiales del miofibroblasto, célula común a todas estas entidades y que se encuentra tanto en tejidos neoplásicos como no neoplásicos, hasta el punto de que algunos autores consideran que no existen los miofibroblastos neoplásicos.

Proliferaciones de miofibroblastos¹¹²

Historia

La mayor parte de la información acumulada sobre el miofibroblasto en las últimas tres décadas, proviene de estudios ultraestructurales. En una de las primeras investigaciones, Karrer¹¹³ demostró en cultivos de aorta de embrión de pollo la presencia de células mesenquimales híbridas con características de fibroblastos (abundantes cisternas de RER) y miofilamentos periféricos típicos del músculo liso. Años después las mismas células se observaron en la media de aorta de gallina y en

úteros estimulados con estrógenos¹¹⁴, ¹¹⁵. Gabbiani y cols¹¹⁶ describieron la presencia y acción transitoria de estas células en la contracción cicatrizal y postularon el papel del miofibroblasto en el tejido de granulación. La hipótesis anterior proponía que la contracción de las cicatrices resultaba del acortamiento de las fibras de colágeno, sin embargo esta perspectiva cambió cuando se observó que también se contraían las cicatrices de animales con escorbuto¹¹⁷.

Ultraestructura

El miofibroblasto se ha definido clásicamente como la célula característica del tejido de granulación. Presentan un núcleo alargado con un perfil ondulado con múltiples cuerpos nucleares y uno o varios nucleolos; tienen citoplasma abundante que contiene abundantes cisternas de RER y un aparato de Golgi bien desarrollado. En la periferia celular hay haces paralelos de filamentos orientados de 4-8 nanómetros de diámetro de tipo actina asociados a cuerpos densos. Dependiendo del plano de corte, los filamentos pueden aparecer más profundamente situados en el citoplasma pero en realidad se encuentran concentrados en la región subplasmolemal.

Los miofilamentos se disponen paralelos a la membrana plasmática o ligados a las placas densas subplasmolemales y en algunos puntos se extienden más allá de la membrana, en el estroma, como bandas densas que tiene un aspecto finamente filamentoso a grandes aumentos y se van afilando según se alejan de la célula. Estas estructuras son los denominados microtendones, fibronexos o fibras de anclaje¹¹⁸. Estos complejos de unión entre el interior del miofibroblasto y el estroma adyacente son los responsables de la transmisión de la fuerza contráctil en el tejido.

Otros rasgos estructurales de los miofibroblastos son escasas vesículas de pinocitosis a lo largo de las densidades lineales y finas tiras discontinuas de material similar al de la lámina basal adyacente a la membrana celular. Además se observan de

forma constante fibrillas de colágeno intracelulares en el tejido de granulación y en cultivos celulares de fibroblastos¹¹⁹. La superficie celular contiene fibronectina, una proteína adhesiva; existen evidencias inmunológicas y ultraestructurales que indican que la actina intracelular y la fibronectina extracelular forma una asociación transmembranosa crítica en la transmisión de la fuerza contractil del miofibroblasto a las fibrillas de colágeno adyacentes.

Histogénesis

La histogénesis del miofibroblasto continúa siendo un tema controvertido. Existen tres teorías acerca de su posible origen.

- La primera es que los miofibroblastos derivan directamente de los fibroblastos. Esta teoría se apoya en muchas evidencias experimentales. Los fibroblastos en cultivo contiene miofibrillas que se tiñen con técnicas de inmunocitoquímica¹²⁰ y estudios ultraestructurales de la media de aortas de embriones de pollo¹¹³, tejido de ratón joven¹²¹, heridas en cicatrización^{122, 123}, fibromatosis palmar¹²⁴ y tejido fibroblástico avascular¹²⁵ han mostrado cómo los fibroblastos presentan la capacidad de desarrollar miofilamentos intracitoplasmáticos. Otros estudios demuestran que la adición de fibronectina purificada a un medio de cultivo que contiene fibroblastos de roedor induce la formación rápida de haces de actina¹²⁶. Los estudios inmunocitoquímicos del tejido de granulación y de las cicatrices hipertróficas, demuestran que los miofibroblastos se identifican por su tinción intensa para actina y miosina no-muscular¹²⁷.

- La segunda teoría propone que los miofibroblastos derivan directamente de células musculares lisas. Varios estudios de la célula muscular lisa han llevado a algunos investigadores a concluir que el músculo liso posee la capacidad de adquirir características ultraestructurales y funcionales de miofibroblastos. Estos estudios han

sido realizados usando células musculares lisas vasculares procedentes de la media y la íntima de perros con hiperplasia obliterativa experimental¹²⁸ y sobre cultivos de células musculares lisas aórticas¹²⁹. Los estudios ultraestructurales realizados con arterias displásicas de humano demostraron un continuo de transformación de células musculares lisas a miofibroblastos¹³⁰. En realidad resulta difícil llegar a conclusiones definitivas de estos estudios puesto que miofibroblastos y células musculares lisas comparten muchos rasgos ultraestructurales, habría que prestar más atención a las diferencias esenciales que existen entre los dos tipos celulares. Por ejemplo, las células musculares lisas se encuentran rodeadas por lámina basal compuesta por la glucoproteína laminina, que se une a colágeno tipo IV; esta estructura mantiene la conexión intercelular y transmite los cambios en la forma de la célula^{131, 132}. Por el contrario, los fibroblastos no tienen membrana basal verdadera y en lugar de laminina, están rodeados por fibronectina, una glicoproteína diferente que une las células con colágenos de tipo I y II¹³³.

- La tercera hipótesis que intenta explicar el origen del miofibroblasto postula que éstos se desarrollan directamente de células mesenquimales primitivas. Los primeros estudios en esta línea, fueron de microscopía electrónica sobre las lesiones intinales proliferativas en monos Rhesus¹³⁴ y en tumores inducidos experimentalmente¹³⁵ y mostraron mezclas de células mesenquimales primitivas, miofibroblastos, fibroblastos y células musculares lisas. Por otro lado, la presencia de miofibroblastos en los fibrohistiocitomas malignos asociados a fibroblastos típicos y células similares a histiocitos ha inducido a pensar muchas veces que existe una continuidad entre estas células¹⁰⁴. El problema de la naturaleza de la célula proliferante en el fibrohistiocitoma maligno ha sido siempre polémico, pero cada vez más datos apoyan un origen fibroblástico en contra de uno histiocitario. Estudios más recientes

que utilizan tejidos humanos normales y patológicos en los que se encuentran miofibroblastos, como el tejido de granulación, las cicatrices hipertróficas, tejido de fibromatosis, demuestran inmunofenotipos complejos de isoformas de actina, desmina y vimentina en miofibroblastos lo que sugiere que la diferenciación celular puede ser mucho más complicada de lo que hasta ahora se conoce^{136, 137}.

Proliferaciones de miofibroblastos

El miofibroblasto es la principal célula proliferativa en 4 situaciones: respuestas reparativas, algunas alteraciones seudoneoplásicas, respuesta del estroma a neoplasias y neoplasias verdaderas tanto benignas como malignas aunque esta última cuestión es controvertida.

- Respuestas reparativas: El miofibroblasto juega un importante papel en la síntesis de colágeno y en la contracción de heridas, hecho comprobado en diferentes estudios sobre tejido de granulación en animales de experimentación¹³⁸. Además se encuentran miofibroblastos en cicatrices hipertróficas, placas ateroscleróticas, cirrosis y contracturas postquemadura. Todos estos procesos se caracterizan por dos fenómenos básicos: depósito de colágeno y contracción¹³⁹.

- Proliferaciones seudoneoplásicas: Gabbiani describió el miofibroblasto como la célula proliferativa en las fibromatosis tras encontrarlo en la enfermedad de Dupuytren. Lo mismo ocurre en varias condiciones denominadas fibromatosis localmente agresivas y en otras condiciones que ópticamente semejan sarcomas, tales como, la fascitis nodular, la fascitis proliferativa, la miositis proliferativa, la funiculitis proliferativa, los seudotumores inflamatorios o los nódulos postquirúrgicos de la vejiga urinaria, la miositis osificante y el seudotumor inflamatorio del pulmón.

Un fenómeno ultraestructural curioso y útil en el diagnóstico diferencial de las proliferaciones miofibroblásticas es que se observen fibrillas de colágeno intracitoplasmáticas. Estas fibrillas se suelen localizar en vesículas con membrana o en túneles citoplasmáticos así como en cisternas de RER. Se han observado en tejidos normales, miofibroblastos cultivados, tejidos odontogénicos de roedores, tejido cicatrizal, fibromatosis y condiciones proliferativas pseudosarcomatosas pero es excepcional encontrarlas en proliferaciones verdaderamente neoplásicas de miofibroblastos o fibroblastos (fibrosarcoma, dermatofibrosarcoma protuberans, fibrohistiocitoma maligno). Por ello, su hallazgo favorece que se trate de un proceso reactivo más que neoplásico. Los análisis bioquímicos realizados sobre tejido de granulación, cirrosis, cicatrices hipertróficas y fibromatosis palmares, revelan la misma composición de la molécula de colágeno con un predominio de colágeno de tipo III embrionario.

- Respuesta estromal a la neoplasia. Los hallazgos ultraestructurales de los miofibroblastos del estroma infiltrado por diversas neoplasias epiteliales, son similares a los de los tejidos normales o del tejido de granulación¹⁴⁰.

- Tumores de miofibroblastos. Debido a que la definición del miofibroblastos es ultraestructural, todos los tumores “miofibroblásticos” sobre todo los benignos (miofibroblastomas mamarios, de partes blandas, meníngeos, pulmonares, en empalizada, con fibras amiantoides, angiomiofibroblastomas de la vulva) deberían ser estudiados mediante microscopía electrónica para certificar su composición celular. Además siempre hay que descartar que los miofibroblastos que se observen no sean

células reactivas benignas del estroma. Los miofibroblastos neoplásicos presentan indentaciones nucleares, haces de microfilamentos paralelos al eje mayor de la célula y rasgos comunes a los fibroblastos no neoplásicos como la presencia de cisternas dilatadas de RER y un prominente aparato de Golgi. Se encuentran abundantes filamentos de anclaje y secreción de gránulos de colágeno. Clásicamente las neoplasias miofibroblásticas se han clasificado como sarcomas de bajo grado o fibrosarcomas. Los miofibroblastomas revisados por Domínguez-Malagón ultraestructuralmente, eran similares en todas las localizaciones, fusiformes, con variables cantidades de RER y miofilamentos de tipo muscular liso, densidades subplasmolemales, material de lámina basal fragmentado y vesículas pinocíticas. No se observaron filamentos de anclaje ni colágeno intracelular. Los filamentos de anclaje se observaron simultáneamente con colágeno intracelular sólo en fascitis nodulares y en fibromatosis agresivas.

Sin embargo, otros autores ponen en duda la existencia del miofibroblasto neoplásico¹⁴¹, afirmando que en realidad se trata de tumores o sarcomas estromales miogénicos con variable diferenciación a músculo liso (más adelante discutiremos el significado de la diferenciación hacia músculo liso) porque, en realidad, no se debe considerar miofibroblasto a cualquier célula que muestre algunos rasgos de diferenciación miocitaria, sólo serían miofibroblastos verdaderos los del tejido de granulación, proliferaciones pseudosarcomatosas (fascitis nodulares, fibromatosis, etc.) y a los del estroma reactivo a la neoplasia. Estos autores se apoyan en la característica positividad de todos estos tumores para CD34, un marcador que relacionaría estas células con las paredes vasculares de las que parecen derivar los miofibroblastos según los modelos estudiados de su desarrollo¹³⁹. Otros autores¹⁴² también sugieren que la mayor parte de los miofibroblastos de tejidos normales son en realidad, pericitos,

miocitos lisos o simplemente células estromales con rasgos mioides en respuesta a demandas funcionales locales. Por ello es importante delimitar el:

*Significado del hallazgo ultraestructural de miofilamentos de tipo músculo liso o actina en distintos tipos celulares*¹⁴³.

El signo de diferenciación muscular lisa más aceptado es la presencia citoplasmática de miofilamentos (actina-miosina y cuerpos densos) se acepta su presencia en células mioepiteliales, miofibroblastos (células típicas del tejido de granulación y del estroma desmoplásico) y en los pericitos; sin embargo, gran variedad de células en condiciones neoplásicas pueden desarrollar una pequeña cantidad de miofilamentos citoplasmáticos, insuficiente para justificar un origen muscular liso y que en su contrapartida benigna no presentan. Este fenómeno se interpreta más como transdiferenciación hacia músculo liso que como metaplasia muscular lisa. Tal transdiferenciación, además de en neoplasias, se ha observado como un artefacto de los cultivos celulares al encontrarse las células en un sustrato fisiológico nuevo. La transdiferenciación hacia músculo liso tiene además trascendencia a la hora de comprender ciertos aspectos de la diferenciación miofibroblástica, puesto que en estudios previos se interpretó la aparición de miofilamentos en el citoplasma de las células como signo de diferenciación miofibroblástica¹⁴⁴. Si esto se extrapolara a todas las células no miofibroblásticas, ni musculares lisas que según este trabajo muestran miofilamentos citoplasmáticos, implicaría que el miofibroblasto puede desarrollarse a partir casi de cualquier célula, o bien que todas estas células diferentes son miofibroblastos en potencia. Parece más apropiado interpretar en términos biológicos que la diferenciación parcial hacia músculo liso es un fenómeno inducido en la mayoría de las células por estímulos externos adecuados tal como el TGF- β ^{145, 146, 147}. Algunas

veces el proceso da lugar a células con algunos rasgos de miofibroblasto impuestos sobre un fenotipo perfectamente reconocible como no muscular, mientras que otras veces, la célula resultante presenta un fenotipo miofibroblástico completo (RER, miofilamentos periféricos, fibronexus y uniones de tipo gap)^{141, 148}

Aunque sería conveniente denominar a estas células, miofibroblastos o similares a miofibroblastos ya que ultraestructuralmente lo parecen, debemos ser conscientes que esta terminología esconde una heterogeneidad histogenética y por lo tanto también una biología celular diferente de la del miofibroblasto clásico del tejido de granulación y del estroma desmoplásico.

Por el contrario, a veces, tumores de naturaleza muscular lisa demostrada mediante inmunohistoquímica, pierden los rasgos ultraestructurales típicos: filamentos finos y cuerpos densos. En estos casos la diferenciación muscular lisa se pone de manifiesto en otros rasgos ultraestructurales más o menos constantes pero suficientemente característicos y que ayudan a realizar el diagnóstico¹⁴⁹. Estas características ultraestructurales se han estudiado en tumores ginecológicos peculiares de naturaleza muscular lisa demostrada bien por inmunohistoquímica, aspecto histológico o localización (mixoides, fibroblásticos, epitelioides, granulares, de células claras y dos de ellos de naturaleza indefinida). De este estudio se concluye que los rasgos ultraestructurales de diferenciación muscular lisa son: Numerosos filamentos finos con cuerpos densos, núcleos de extremos redondeados (“en cigarro puro”), contracciones nucleares, lámina basal y uniones intercelulares planas, vesículas pinocitóticas y numerosas mitocondrias.

Todo este proceso de diferenciación a músculo liso o de transdiferenciación, no sólo se da en tejidos dañados o en neoplasias, sino que además se han observado dos modelos similares en dos situaciones del desarrollo embriológico:

- En el proceso de desarrollo y evolución del estroma del cordón umbilical (en el que se postula que el miofibroblasto es la célula característica de la gelatina de Wharton)^{45, 142}. Este modelo está basado en el desarrollo del tejido mixoide por excelencia, por lo que nos servirá como referencia para comparar la ultraestructura de los tumores mixoides de partes blandas (tal y como hemos expuesto en los resultados);
- En el desarrollo de los vasos y las células relacionadas con ellos en las vellosidades placentarias^{47, 150, 151}.

De toda la literatura revisada y los hallazgos de nuestra serie, concluimos que existe un espectro de células que pueden desarrollar un fenotipo miogénico en respuesta a determinados estímulos externos tanto en tejidos normales como en condiciones neoplásicas. Que estas células derivarían de una célula mesenquimal primitiva relacionada con las paredes vasculares. La definición celular de miofibroblasto debería reservarse para aquellas células descritas en el tejido de granulación, las condiciones pseudoneoplásicas descritas y el estroma reactivo a las neoplasias, mientras que las proliferaciones neoplásicas benignas y malignas descritas como miofibroblásticas estarían constituidas por células mioides del espectro de diferenciación célula mesenquimal primitiva perivascular-fibroblasto-miofibroblasto-músculo liso.

También se ha descrito retrodiferenciación de músculo esquelético a músculo liso¹⁵² y metaplasia mioide (a músculo esquelético) de células musculares lisas perivasculares, siguiendo este mismo modelo¹⁵³.

3. TUMORES DE MÚSCULO LISO¹⁵⁴

A) ANGIOLEIOMIOMA (ANGIOMIOMA, LEIOMIOMA VASCULAR)

Definición y consideraciones generales

Se trata de un tumor dérmico profundo o subcutáneo benigno que suele doler. Está constituido por haces de músculo liso maduro que rodean y disecan canales vasculares. Estos tumores forman parte de un espectro morfológico junto con el miopericitoma y el miofibroma.

Características clínicas

Son más frecuentes en mujeres, aunque los que se localizan en la extremidad superior y la cabeza parecen ser más frecuentes en hombres. Suelen aparecer entre la cuarta y la sexta décadas de la vida.

Características macroscópicas

Los angioleiomiomas son tumores bien delimitados, esféricos, de color blanco-grisáceo o pardo que suelen medir menos de 2 cms de diámetro. Los de tipo sólido suelen ser más pequeños que el resto.

Características microscópicas

Estos tumores pueden subdividirse en tres tipos de acuerdo al patrón histológico predominante: sólido, venoso y cavernoso. Las células musculares lisas del angioleiomioma son maduras y bien diferenciadas. No son frecuentes las figuras de mitosis. En los tumores de tipo sólido, los haces de músculo liso se disponen muy juntos y entrelazados. Este tipo de angioleiomioma suele presentar abundantes luces vasculares de pequeño tamaño y con forma de hendidura. Los de tipo venoso contienen canales

vasculares de tipo venoso con gruesas paredes musculares y los haces de músculo liso no son tan compactos. Las capas musculares lisas más externas de los canales musculares se mezclan con los haces de músculo liso interpuestos entre los vasos. Los angioleiomiomas de tipo cavernoso están constituidos por canales vasculares dilatados y las paredes musculares de estos vasos se confunden con los haces de músculo liso intervasculares. Aunque en algunos casos un mismo tumor presenta dos patrones morfológicos, normalmente suele haber uno dominante. En raras ocasiones, los núcleos pueden ser grandes e hipercromáticos, probablemente por atipia degenerativa. Pueden observarse zonas de hialinización, calcificación, cambio mixoide, hemorragia y pequeños grupos de grasa madura.

El caso incluido en nuestra serie es predominantemente de tipo venoso, encontrándose zonas con degeneración mixoide (de las que se tomaron las muestras para el estudio ultraestructural) entre los haces de músculo liso intervasculares.

Características inmunohistoquímicas

La mayoría de las células son positivas para actina músculo específica alfa, desmina, vimentina y colágeno IV. En más de la mitad de los casos se observan, en la cápsula o el estroma, fibras nerviosas positivas para proteína S100 y PGP9.5, que probablemente sean las mediadoras del dolor que suelen producir estos tumores. A diferencia de los angiomiolipomas retroperitoneales, los angioleiomiomas (incluidos los que contienen grasa) son negativos para HMB.45. Nuestro caso presentaba características diagnósticas histológicas por lo que no se realizó estudio inmunohistoquímico.

Características citogenéticas

Sólo se han descrito en cuatro casos de diferentes localizaciones. Todos eran diploides sin que se hayan detectado alteraciones constantes entre ellos.

Características ultraestructurales

Como en el caso presentado, se trata de tumores con rasgos evidentes de diferenciación muscular lisa. Es decir, se observan células fusiformes que, de forma característica se ordenan en haces paralelos y están rodeadas por lámina externa, con vesículas de pinocitosis y abundantes filamentos finos con cuerpos densos.

La imagen ultraestructural no es diagnóstica más que de la línea y el grado de diferenciación, pero no sirve para el diagnóstico diferencial con otros tipos tumorales musculares lisos como los leiomiomas de partes blandas.

B) LEIOMIOMA¹⁵⁴

Definición y consideraciones generales

La mayor parte de los casos se localizan en el útero, el otro tipo de leiomioma relativamente frecuente es el leiomioma superficial en relación con el músculo erector del pelo (cutáneo o subcutáneo). También se han descrito casos aislados de leiomiomas de partes blandas profundas. Nuestro caso pertenece al segundo grupo, en una localización poco frecuente pero descrita¹⁵⁵.

Características macroscópicas

Son tumores bien delimitados blanco-grisáceos.

Características microscópicas

Están constituidos por células muy parecidas a los miocitos lisos normales por su citoplasma eosinófilo en las tinciones de hematoxilina-eosina, fucsínófilo en el tricrómico de Masson y su núcleo de bordes romos, uniforme y sin atipia, con forma de puro. Estas células se disponen en fascículos ordenados y entrelazados. Estos tumores están muy bien diferenciados, no suelen presentar atipia y, como mucho, una actividad mitótica muy baja. Como el resto de los tumores benignos de músculo liso no deben presentar necrosis, pero pueden presentar cambios degenerativos como hialinización, degeneración mixoide, calcificaciones, etc.

Características inmunohistoquímicas

Las células tumorales siempre son positivas para actina, desmina y h-caldesmon, al menos focalmente. La proteína S100 es negativa.

Características ultraestructurales

Se caracterizan por presentar los rasgos de diferenciación muscular lisa a los que hemos hecho referencia en el apartado del angioleiomioma, por lo que la imagen ultraestructural no es diagnóstica.

C) LEIOMIOSARCOMA¹⁵⁴

Definición y consideraciones generales

Se trata de un tumor maligno constituidos por células con rasgos claros de diferenciación muscular lisa.

Los leiomiosarcomas pueden clasificarse en dos grandes grupos:

- Uterinos, entre los que se incluye el caso de esta serie.

- De partes blandas, entre los que se incluyen:
- Retroperitoneales (incluidos los pélvicos)
- De paredes de grandes vasos (sobre todo venosos)
- De partes blandas extraperitoneales (sobre todo en la extremidad inferior)
- Subcutáneos
- Dérmicos
- Intramusculares.

Suelen ocurrir en mujeres postmenopáusicas y no se han identificado factores de riesgo que aumenten su incidencia.

Características clínicas

Los signos y síntomas son los mismos que los del leiomioma uterino, aunque suele producirse en mujeres. Un signo de sospecha es el crecimiento rápido en una mujer postmenopáusica.

Características macroscópicas

Los leiomiosarcomas son masas carnosas y de color variable del gris al blanco o amarillo. En los casos de mayor tamaño suele aparecer hemorragia, necrosis o cambio quístico. El borde del tumor suele ser bien delimitado, aunque también puede observarse infiltración obvia

Características microscópicas

El patrón histológico típico del leiomiosarcoma es el de grupos de células fusiformes bien delimitados e intersectando entre sí. Estos tumores suelen ser densamente celulares, aunque pueden presentar fibrosis o degeneración mixoide, como

en nuestro caso; ésta, puede producir un patrón microquístico o retiforme. En los casos de mayor tamaño son frecuentes las zonas hialinizadas, hipocelulares y las zonas de necrosis coagulativa.

Los núcleos de las células neoplásicas son típicamente alargados de bordes romos y pueden ser lobulados o indentados. Suele ser evidente el pleomorfismo e hipercromatismo nuclear, aunque puede ser focal, leve o, a veces, ausente. Suele ser fácil encontrar figuras de mitosis, aunque pueden ser pocas o parcheadas; suelen observarse figuras de mitosis atípicas. A veces se observan zonas inespecíficas, pobremente diferenciadas o pleomórficas adyacentes a zonas típicas de leiomioma. Este fenómeno se denomina “desdiferenciación” aunque no es un término de uso frecuente. Otro fenómeno raro es la asociación de un componente osteosarcomatoso o rabdomiosarcomatoso a un leiomioma (mesenquimoma maligno).

Características inmunohistoquímicas

En la mayoría de los leiomiomas son positivas la AML (actina del músculo liso), la desmina y el h-caldesmon. Sin embargo, ninguno de estos anticuerpos es absolutamente específico de diferenciación muscular lisa (o muscular en general), por lo que la positividad de dos de los tres marcadores es preferible a la de uno sólo. Las zonas “desdiferenciadas” pueden ser negativas para AML y desmina, pero la negatividad de todo el tumor para ambas hace muy dudoso el diagnóstico. Las tinciones que focalmente pueden ser positivas son las queratinas, el EMA, CD34 y S100. El c-kit (CD117) suele ser negativo, a diferencia de los tumores de la estroma gastrointestinal. En general, el diagnóstico de leiomioma de partes blandas no debe basarse en la inmunohistoquímica, si la morfología no es compatible.

Características genéticas

Citogenética

Se han publicado los cariotipos de unos 100 leiomiomas. La mayoría son complejos y no se han detectado aberraciones constantes. Las pérdidas cromosómicas suelen ser en las regiones 3p21-23, 8p21-pter, 13q12-13, 13q32-qter, mientras que las ganancias suelen producirse en la región 1q21-31. No se han identificado diferencias valorables entre los distintos subtipos. Mediante hibridación genómica comparativa se han identificado frecuentes cambios numéricos, como la ganancia de material procedente de los cromosomas 1, 15, 17, 19, 20, 22 y X y pérdidas de 1q, 2, 4q, 9p, 10, 11q, 13q y 16 y se han identificado regiones de amplificación como 1q21, 4p14-pter, 12q13-15, 13q31, 17p11 y 20q13. Se han observado alteraciones relacionadas con el tamaño del tumor, como la ganancia en 16p y 17p que se asocia a tumores de pequeño tamaño y la ganancia en 6q y 8q que se asocia con tumores de mayor tamaño.

Genética molecular

Se ha implicado el gen *RBI*, hallazgo compatible con la pérdida de material en el cromosoma 13. El análisis de los genes y proteínas de la ruta Rb-ciclinaD (*RBI*, *CDKN2A*, *CCMD1* y *CCND3*) muestra frecuentes alteraciones en estos tumores. Parece que las alteraciones en *TP53* y *MDM2* son menos frecuentes que en otros tipos de sarcoma aunque se ha sugerido que estas alteraciones se asocian a leiomiomas con peor pronóstico. La amplificación de varios loci sugiere que los genes candidatos de estas regiones son *MDM2*, *GLI*, *CDK4* y *SAS* en 12q13-15, el *FLF* y el *PRUNE* en 1q21 y la región crítica implicada en el síndrome de Smith-Magenis en 17p11.2.

Características ultraestructurales

Los leiomiomas presentan al menos alguno de los rasgos ultraestructurales de diferenciación muscular lisa, es decir, la presencia de filamentos citoplasmáticos con cuerpos densos, uniones intercelulares, vesículas pinocíticas y membrana basal. Sin embargo, alguno de estos rasgos o incluso todos pueden ser focales o no aparecer. Es muy importante tener en cuenta que los filamentos con cuerpos densos también aparecen en los miofibroblastos y en otras células. No suele ser necesaria la ultraestructura para realizar el diagnóstico y sus hallazgos siempre deben valorarse en relación a la morfología del tumor.

En nuestro caso, se trataba de un tumor con escasos signos de diferenciación ultraestructural que conservaba escasos rasgos de diferenciación muscular lisa, como la ordenación en haces paralelos de las células, la morfología celular, la presencia de filamentos finos y cuerpos densos y restos de lámina basal. En este caso la ultraestructura no es diagnóstica pero sí apoya el diagnóstico histológico de un caso con un cuadro clínico compatible.

4. TUMORES DE MÚSCULO ESTRIADO¹⁵⁶

A) RABDOMIOMA

Definición y consideraciones generales

El rabdomioma es un tumor mesenquimal benigno con diferenciación muscular esquelética que se subdivide en dos grupos: cardíaco y extracardíaco dependiendo de su localización. El rabdomioma extracardíaco se subdivide a su vez en otros dos subtipos: adulto y fetal, dependiendo del grado de diferenciación y suele localizarse en la región de cabeza y cuello. En raras ocasiones se localiza en el tracto genital (rabdomioma genital). Se han descrito localizaciones más infrecuentes, como el mediastino, cuyo origen se supone que está en las células mioides tímicas¹⁵⁷. A diferencia del rabdomioma cardíaco no se asocia con esclerosis tuberosa.

Nuestros casos corresponde a dos rabdomiomas extracardíacos, uno de tipo fetal intermedio y otro de tipo genital. Estos son los dos tipos de rabdomioma que trataremos más extensamente.

a) RABDOMIOMA FETAL

Definición y consideraciones generales

El rabdomioma fetal es un tumor mesenquimal benigno raro que muestra diferenciación hacia músculo estriado, en este caso, inmaduro y una predilección por la región de cabeza y cuello. Se distingue del rabdomioma de tipo adulto por su menor grado de diferenciación hacia músculo estriado, que le confiere un aspecto histológico distinto.

Uno de nuestros casos pertenece a esta categoría diagnóstica.

Más del 90% de los rabdomiomas fetales se localizan en las partes blandas o en las mucosas de la cabeza y el cuello aunque, en casos raros, pueden afectar a otras localizaciones.

El caso incluido en nuestra serie es de tipo intermedio y presenta la localización típica (mejilla).

Características clínicas

En un estudio, 10 de 24 casos (42%) eran menos de un año de edad, 6(25%) eran congénitos y 11 (46%) afectaban a pacientes mayores de 15 años de edad. Debido al amplio rango de edad de esta entidad, el caso incluido en la serie (75 años) no se considera un caso excepcional.

El rabdomioma fetal es una masa solitaria bien delimitada que afecta a partes blandas o mucosas. Algunos casos se asocian con el síndrome nevus-basocelular.

Características macroscópicas

Se trata de una masa solitaria, circunscrita, blanda y blanco-grisácea de color amarillento-rosado con una superficie de corte brillante. En las mucosas es polipoide.

Características microscópicas

El rabdomioma fetal es circunscrito pero no presenta cápsula. La forma inmadura “clásica” está constituida por células fusiformes sin atipia fusiformes que se asocian con finos miotúbulos fetales distribuidos irregularmente en un estroma mixoide, más abundante que en la forma del adulto. La forma “intermedia” (también denominada “juvenil” o “celular”), a la que pertenece el caso incluido en la serie, muestra un espectro más amplio de diferenciación o una maduración intermedia entre las formas

“clásicas” de rabdomioma fetal y adulto. Pueden observarse grandes células de músculo estriado con forma de tiras entrelazadas, fascículos anchos de rabdomioblastos fusiformes delicados con aspecto de tumor de músculo liso, o rabdomioblastos de tipo ganglión. No se observan atipia nuclear ni necrosis. No suelen observarse figuras de mitosis, pero en una serie se observaron 5 casos de 24 rabdomiomas fetales con un índice mitótico de 1-14 por 50 campos de gran aumento. No se conoce con exactitud la relación que puedan tener estos casos con el rabdomiosarcoma embrionario bien diferenciado. El criterio más importante para diferenciar el rabdomioma fetal del rabdomiosarcoma es la atipia nuclear.

Características inmunohistoquímicas

Todos los casos presentan un inmunofenotipo de músculo estriado, con fuerte positividad para actina de músculo estriado, mioglobina y desmina. También puede observarse reactividad focal para actina de músculo liso, proteína S100, PGFA y vimentina. La positividad para la vimentina es variable y a menudo débil. Las citoqueratinas, el CD68 y el EMA son negativos.

Características genéticas

En pacientes con el síndrome del nevus-carcinoma basocelular se han publicado muchos casos de rabdomioma fetal. Este síndrome se debe a la mutación del gen supresor tumoral *PTCH* que codifica el receptor que inhibe la vía señalizadora en el erizo y las mutaciones en la línea germinal suelen conducir a la interrupción de la codificación de la proteína y su inactivación. Aunque no se han estudiado los rabdomiomas en concreto, el alelo salvaje se pierde por lo general en los mecanismos de pérdida alélica que dan lugar a otros tumores en este síndrome. Las alteraciones

citogenéticas observadas apoyan que se trate de una neoplasia más que de una lesión hamartomatosa¹⁵⁸. Aunque hay autores que han descrito casos¹⁵⁹ extracardiacos (cervical multifocal) de los que deducen que pueden tratarse de procesos de degeneración y regeneración desordenada más que de una neoplasia o de un hamartoma.

Características ultraestructurales

En la microscopía electrónica se observan miofilamentos gruesos y finos y bandas Z, así como glucógeno en el citoplasma de los rabdomioblastos inmaduros. Todos ellos son rasgos de diferenciación rabdomioblástica de la que se discutirá más adelante, al tratarla en conjunto para todos los tumores rabdomioblásticos benignos.

b) RABDOMIOMA GENITAL

Definición y consideraciones generales

El rabdomioma genital es un tumor mesenquimal benigno raro con un grado de diferenciación muscular esquelética avanzado y que se localiza preferentemente en la vagina en mujeres de edad media, como en el caso presentado en esta serie.

La mayoría de los casos se presentan como pólipos en la vagina, la vulva o el cérvix. Se han descrito casos raros en varones de localización paratesticular o epididimaria¹⁶⁰.

Características clínicas

La edad media es de 42 años (rango de entre 30 y 48 años). Estos tumores pueden ser asintomáticos o que la paciente los haya detectado desde hace 4 a 5 años. El rabdomioma genital es un tumor bien delimitado, único con el aspecto clínico de un pólipo vaginal benigna.

Características macroscópicas

La masa vaginal polipoide (con un tamaño medio de 2 cms. y un rango de entre 1 y 3 cms.) está revestida por una mucosa lisa. En algunos casos se observa un pedículo (de 0,6 a 1,5 cms. de largo).

Características microscópicas

El tumor polipoide y no encapsulado está constituido por miocitos estriados distribuidos al azar, con forma de banda y sin atipia en el seno de un estroma fibroso que contiene canales vasculares dilatados. En este tipo de rabdomioma también se observa abundante estroma. Las células tienen un citoplasma amplio y eosinófilo que contiene abundante glucógeno y que en muchas células presenta estriaciones y miofibrillas longitudinales. Las células presentan un núcleo central de forma oval o redondo con un nucleolo prominente redondo. Los rabdomiomas vaginales no contienen células “araña” como las que se observan en los rabdomiomas adultos ni el abundante estroma mixoide y los rabdomioblastos fusiformes primitivos del rabdomioma fetal clásico. Muestran maduración rabdomioblástica mayor que el rabdomioma fetal clásico siendo similares a algunos rabdomiomas fetales mucosos de tipo intermedio de la cabeza y el cuello.

Sin embargo, no presentan la variabilidad en la morfología y la arquitectura celular de la variedad intermedia de la cabeza y el cuello.

El caso incluido en la serie muestra las características histológicas descritas.

Características inmunohistoquímicas

En todos los casos de rabdomioma genital se confirma mediante tinciones inmunohistoquímicas la diferenciación muscular esquelética, que demuestran positividad citoplasmática difusa para actina muscular específica, mioglobina y desmina. La actina muscular lisa, la vimentina, citoqueratina, proteína S100, PGFA, Leu7, EMA y CD68 son negativas.

Técnicas especiales

También resulta útil para el diagnóstico diferencial entre rabdomiomas y rabdomiosarcomas la determinación argéntica de regiones organizadoras nucleolares (AgNOR)¹⁶¹.

Características ultraestructurales de los rabdomiomas

La microscopía electrónica confirma el origen muscular esquelético de los rabdomioblastos estriados.

La diferenciación hacia músculo estriado puede observarse en distintos grados: el primer hallazgo en la formación de los sarcómeros es la aparición de filamentos finos y ocasionales filamentos gruesos. En estadios más maduros, se observa una mayor cantidad de filamentos gruesos que alternan con finos y se asocian a polirribosomas. Más adelante se forman remedos de bandas Z que se ven como densificaciones poco definidas y, por último, se forman sarcómeros con bandas Z bien definidas. Se admite que el diagnóstico de diferenciación rabdomioblástica, mínimo, exige la detección de filamentos finos y gruesos alternantes asociados a polirribosomas.

La principal dificultad en el diagnóstico de los tumores rabdomioblásticos (tanto benignos como malignos) estriba en la interpretación de los rabdomiocitos esqueléticos

atrapados en la tumoración como células neoplásicas. Siempre deben buscarse sarcómeros abortivos en células indudablemente tumorales.

Por otro lado, también debe tenerse en cuenta que la diferenciación rabdomioblástica puede aparecer en otros tumores que presentan otras líneas de diferenciación simultáneas, como el meduloblastoma, el nefroblastoma, el tumor tritón o los sarcomas con diferenciación heteróloga¹⁶².

Las características ultraestructurales de los rabdomiomas, tanto cardíacos como extracardíacos se encuentran extensamente discutidas en la literatura revisada. En todos los artículos se hace referencia a las características ultraestructurales que indican diferenciación rabdomioblástica, que constituyen los pilares del diagnóstico^{163, 164, 165, 166, 167, 168}.

En los estudios ultraestructurales comparativos entre los tres tipos de rabdomioma extracardíaco¹⁶⁹, se describe:

-Rabdomioma tipo adulto: presentan escaso estroma y miofibrillas distribuidas al azar con material de banda Z en “barras”¹⁷⁰. Se observa focalmente ordenación sarcomérica de las miofibrillas y las células aparecen rellenas de mitocondrias e inclusiones laminares.

En otras descripciones ultraestructurales de este tipo de tumor¹⁷¹, se describe la aparición de túbulos transversales y tríadas, además de los miofilamentos. En este estudio se describen dos casos, en uno de ellos predominaban las mitocondrias intracitoplasmáticas mientras que en el otro lo hacían los miofilamentos.

-Rabdomioma de tipo fetal, muestran mayor cantidad de estroma y menor grado de diferenciación. Observándose miofilamentos desorganizados, sólo ocasionalmente se encuentran “barras” de material de banda Z y los citoplasmas contienen menos mitocondrias.

-Rabdomioma de tipo genital, muestran mayor cantidad de estroma y miofilamentos ordenados.

En todos los tipos se describe la presencia de glucógeno intracelular¹⁷². En la descripción ultraestructural de un rabdomioma de paladar blando, se refieren también a la presencia de abundantes mitocondrias y glucógeno, miofilamentos y miofibrillas, bandas Z hipertróficas y masas de material de banda Z. Las triadas distribuidas al azar y también en relación con sarcómeros. En los sarcómeros, éstas se localizan regularmente cerca de las uniones A-I. Esta peculiaridad del músculo esquelético de los mamíferos es un criterio para distinguir el músculo cardíaco y por tanto podría servir para realizar el diagnóstico diferencial entre los rabdomiomas cardíacos y extracardíacos¹⁷³.

Se han descrito algunas peculiaridades ultraestructurales en casos aislados como la presencia de cisternas dilatadas de RER y la ausencia de glucógeno¹⁷⁴.

Nuestros dos casos se ajustan a este patrón. Ni entre estos dos, ni en la literatura se describen asociaciones peculiares de las células respecto a los vasos, ni distintos tipos celulares característicos¹⁵³. La única asociación de este tipo mencionada en la literatura se refiere a la descripción de un medulomioblastoma en el que el estudio ultraestructural demuestra características similares a las del rabdomioma fetal y se postulan cuatro posibles teorías para explicar esta similitud: a) un estado embrionario de diferenciación miofibrilar. B) un factor malformativo. C) un factor teratoide. D) o una metaplasia mioide de las células musculares lisas vasculares del médulomioblastoma (teoría en la que el origen de las células mioides neoplásicas serían células perivasculares como en los modelos descritos en este estudio).

Existen otros trabajos experimentales en ratones¹⁵² en los que se describe una retrodiferenciación inversa a esta metaplasia. En estos experimentos, se inducen leiomiomas en músculo esquelético murino de los que aíslan miosina, observando

que ésta es similar a la miosina fetal, lo que demuestra que los leiomioblastos madre tumorales tienen su origen en células musculares esqueléticas retrodiferenciadas.

En cuanto al rabdomioma cardíaco, existen estudios que, basándose en el patrón de distribución de la producción de péptido natriurético atrial¹⁷⁵, postulan que se trata de una lesión hamartomatosa de células del sistema de conducción cardíaco en lugar de una verdadera neoplasia, o incluso en la similitud ultraestructural de las células que lo forman con las células de Purkinje¹⁷⁶. En estos casos, se observa una asociación estrecha entre los rabdomioblastos cardíacos y células satélite (rodeadas por una misma membrana basal) lo que plantea que los primeros podrían resultar de la diferenciación de estas últimas.

B) RABDOMIOSARCOMAS

a) RABDOMIOSARCOMA EMBRIONARIO

Definición y consideraciones generales

Se trata de un sarcoma de partes blandas primitivo que reproduce las características fenotípicas y biológicas del tejido muscular esquelético embrionario. El término rabdomiosarcoma embrionario incluye tres subtipos: fusocelular, botrioides y anaplásico.

Los rabdomiosarcomas constituyen la categoría de sarcomas de partes blandas más frecuente en niños y adolescentes. El rabdomiosarcoma embrionario es el subtipo más frecuente. La gran mayoría de los casos se producen en niños menores de 5 años. Existe un pequeño porcentaje de casos en neonatos y unos pocos son congénitos. Son muy raros los casos en adultos. La incidencia es similar en ambos sexos, con una leve predominancia del sexo masculino.

Nuestra serie de rabdomiosarcomas se ajusta a este perfil general, siendo más frecuentes los rabdomiosarcomas embrionarios, con una edad media en el mismo rango que la descrita.

A pesar de que los rabdomiosarcomas embrionarios contienen células histológicamente idénticas al músculo esquelético en desarrollo, menos del 9% se originan en la musculatura de las extremidades. La gran mayoría se localizan en la región de cabeza y cuello (en torno al 47%) y otro importante porcentaje en el tracto génitourinario (28%). Las localizaciones más frecuentes en el tracto génito-urinario son la vejiga, que en nuestra serie es la localización más frecuente, la próstata y el tejido blando paratesticular. En la cabeza y el cuello, las localizaciones frecuentes son los tejidos intrínsecos o adyacentes a la órbita y el párpado, la orofaringe, la parótida, el canal auditivo y el oído medio, la fosa pterigoidea, la nasofaringe, las fosas nasales, los senos paranasales, la lengua y las mejillas. Además, también pueden localizarse en la vía biliar, el retroperitoneo, la pelvis, el periné y el abdomen, y se han publicado casos de localización visceral, en el hígado, el riñón, el corazón y los pulmones. Los rabdomiosarcomas embrionarios pueden afectar a los tejidos blandos del tronco y el esqueleto apendicular pero son mucho menos frecuentes que los rabdomiosarcomas alveolares en esta localización. También se han publicado casos raros de origen cutáneo.

Los rabdomiosarcomas fusocelulares suelen originarse preferentemente en los tejidos blandos escrotales o en la región de cabeza y cuello. También pueden darse en adultos, pero no en zonas paratesticulares. Por definición, los rabdomiosarcomas botrioides se originan bajo una superficie epitelial mucosa, por lo que se localizan en órganos como la vejiga, la vía biliar, la faringe, la conjuntiva o el canal auditivo.

Características clínicas

A consecuencia de la variada distribución anatómica de los rabdomiosarcomas embrionarios, producen una gran variedad de síntomas, generalmente dependientes del efecto masa y la obstrucción que provoquen.

Los rabdomiosarcomas embrionarios se originan por mutaciones esporádicas o hereditarias. En el último caso, suelen producirse como una variación de la hipótesis de Knudson-Strong de los dos golpes, que en teoría implica la pérdida de heterocigosidad o la metilación aberrante de genes, así como mutaciones del ADN. Es muy rara la malignización de los rabdomiomas. No se han identificado los carcinógenos que provocan rabdomiosarcomas en humanos, pero sí en los estudios en ratones y algunas especies de pez.

Características macroscópicas

Como la mayor parte de las neoplasias pediátricas, los rabdomiosarcomas embrionarios son masas amarillentas, carnosas, mal circunscritas que improntan directamente en las estructuras adyacentes. Los subtipos fusocelular y botrioides presentan rasgos característicos adicionales. Los rabdomiosarcomas fusocelulares, como el resto de las lesiones fusocelulares, son tumores amarillentos, fibrosos y firmes, con superficie de corte arremolinada. Los tumores botrioides, como su propio nombre implica, presentan un aspecto polipoide característico con racimos de pequeños nódulos sesiles o pediculados que protruyen a través de la superficie epitelial.

Características microscópicas

Los rabdomiosarcomas embrionarios están constituidos por células mesenquimales primitivas en distintos estadios de miogénesis, es decir,

rabdomioblastos. Las células que constituyen el extremo más primitivo del espectro, son las células estrelladas con citoplasma anfofílico claro y núcleo oval central. Según se diferencian estas células, cada vez adquieren más citoplasma y más eosinofilia y se alargan, estas células se describen como células “araña”, en “tira” o en “renacuajo”. Las células más diferenciadas presentan citoplasmas eosinófilos brillantes con estriaciones transversales y multinucleación; también pueden observarse formas miotubulares. La diferenciación es mayor tras quimioterapia, ya que los elementos más diferenciados son los que peor responden al tratamiento y acaban siendo los predominantes.

La arquitectura histológica del rabdomiosarcoma embrionario también reproduce el músculo embrionario que está constituido por agregados de mioblastos en el seno del tejido mesodérmico laxo y mixoide. La densidad celular es variable.

Nuestros casos reproducen este cuadro histológico diagnóstico, sin que se hayan observado zonas fusocelulares, ni anaplásicas.

El subtipo botrioides contiene agregados celulares lineales que empujan a la superficie epitelial. Este rasgo, denominado capa de cambium es característico de este tumor. Los rabdomiosarcomas botrioides también contienen un número variable de nódulos polipoides, con un abundante estroma mixoide que puede dar un aspecto engañosamente benigno.

El subtipo fusocelular está constituido por fascículos arremolinados de células fusiformes. Estas células son similares a miocitos lisos, núcleos centrales de extremos romos, sin embargo, las estriaciones transversales y la eosinofilia intensa del citoplasma indican diferenciación de músculo esquelético, que debe confirmarse mediante estudio inmunohistoquímico. Pueden presentar un patrón estoriforme como el del fibrohistiocitoma maligno u ondulado como el del neurofibroma.

El subtipo anaplásico de rabdomiosarcoma viene definido por la presencia de grandes células atípicas con núcleo hipercromático. Estas células pueden aparecer tanto en el tipo embrionario como en el alveolar pero es más frecuente en el primero. También pueden aparecer mitosis multipolares atípicas. Los cambios anaplásicos pueden ser focales o difusos.

Características inmunohistoquímicas

Estos tumores se caracterizan por la positividad para marcadores de diferenciación rabdomioblástica. La presencia de estos marcadores depende del grado de diferenciación, como ocurre durante la embriogénesis. Por tanto, en la mayor parte de las células primitivas, sólo está presente la vimentina, mientras que la desmina y la actina aparecen progresivamente por los rabdomioblastos en desarrollo. Las células diferenciadas son positivas para mioglobina, miosina y creatin-quinasa M. Los marcadores musculares como la desmina y la actina muscular específica aparecen en los miocitos lisos, los miocitos cardíacos, los miofibroblastos, las células mioepiteliales, los pericitos y algunas células mesoteliales. Hoy día se utilizan también anticuerpos muy específicos para el diagnóstico de los rabdomiosarcomas, como son la miogenina y el anti-MyoD1. Siempre teniendo en cuenta que sólo es específica la tinción nuclear.

Se ha observado expresión aberrante de proteína S100, citoqueratinas, neurofilamentos, CD20 e inmunoglobulinas. También se ha observado tinción con actina muscular lisa y enolasa neuronal-específica.

Características citogenéticas

Los análisis moleculares de loci polimórficos muestran pérdidas alélicas en la región cromosómica 11p15 en la mayoría de los rabdomiosarcomas embrionarios. El

hallazgo de que supresión del crecimiento cuando se introducen fragmentos cromosómicos que contienen la región 11p15 en células de rabdomiosarcoma embrionario apoya la hipótesis de que en esta región cromosómica hay un gen supresor tumoral. Más aún, en el síndrome de Beckwith-Wiedemann se producen alteraciones hereditarias en esta región, que se trata de un síndrome de sobrecrecimiento heterogéneo que asocia un mayor riesgo de producción de distintas neoplasias, incluidos rabdomiosarcomas embrionarios. Los estudios de expresión indican que varios genes de la región 11p15, como el *IGF2*, *H19* y *CDKN1C*, se expresan de uno de los dos alelos en un proceso específico de progenitor de origen denominado imprimería. Estos hallazgos combinados sugieren un modelo en el que el gen supresor tumoral imprimerado se inactiva durante la carcinogénesis del rabdomiosarcoma embrionario por la pérdida del alelo activo y la retención del alelo inactivo.

Los estudios citogenéticos del rabdomiosarcoma embrionario muestran una estructura compleja y múltiples cambios del número de cromosomas, que suelen incluir copias extra de los cromosomas 2, 8 y 13. También se han encontrado reordenamientos de las regiones 1p11-q11 y 12q13 en algunos casos. Los análisis de hibridación genómica comparativa de los cambios en el número de copias de la ampliación genómica en ciertos grupos de rabdomiosarcomas embrionarios confirman la ganancia cromosómica e identifican varias regiones de pérdida, como el cromosoma 16. Estos análisis demuestran también que la amplificación genómica es rara en los rabdomiosarcomas embrionarios excepto en el grupo de los anaplásicos. Por último, los análisis directos de los oncogenes conocidos y de los genes de supresión tumoral identifican mutaciones que inactivan *TP53* y *CDKN2A* y mutaciones que activan la familia de genes *RAS* en grupos de rabdomiosarcoma embrionario. Esta variedad de

alteraciones genéticas indica que durante la tumorigénesis del rabdomiosarcoma embrionario pueden colaborar varios acontecimientos.

La ploidía de las células tumorales influye en el pronóstico en algunas publicaciones, teniendo mejor pronóstico los rabdomiosarcomas embrionarios hiperploides. Sin embargo, este fenómeno no se ha confirmado en todos los estudios y no parece ser una variable independiente.

b) RABDOMIOSARCOMA ALVEOLAR

Definición y consideraciones generales

El rabdomiosarcoma alveolar es una neoplasia maligna de células redondas primitivas que parece citológicamente un linfoma y que muestra diferenciación focal a músculo estriado.

El rabdomiosarcoma alveolar se da a cualquier edad sin que se observe una predilección por los niños, siendo frecuente entre los adolescentes y jóvenes; existen casos muy raros congénitos. La edad media de afectación es de 6,8 y 9 años en las publicaciones de la Sociedad Internacional de Oncología Pediátrica y del Estudio Intergrupos de Rabdomiosarcoma. Es menos frecuente que el rabdomiosarcoma embrionario. No se observa predilección por ninguno de los sexos, ni geográfica, ni racial.

Suele localizarse en las extremidades, otras localizaciones son las regiones paraespinal y perineal y los senos paranasales. Los rabdomiosarcomas mixtos alveolares/embrionarios se originan en las zonas de predilección del rabdomiosarcoma embrionario, como el tracto génitourinario o la órbita, pero estos son casos raros.

Características macroscópicas

Se trata de tumores de tejidos blandos expansivos, de crecimiento rápido con una superficie de corte carnosa de color grisáceo. Contienen cantidades variables de tejido fibroso.

Características microscópicas

Los tres subtipos histológicos principales son: el rabdomiosarcoma alveolar típico, sólido y mixto (alveolar/embrionario). Todos los rabdomiosarcomas alveolares presentan células redondas con características de aspecto linfomatoso pero con diferenciación mioblástica primitiva. Las características morfológicas varían dependiendo de la presencia o ausencia de tabiques fibrovasculares que dividen los grupos celulares en nidos. En estos nidos se observan grupos celulares centrales con menor cohesión en su periferia. Las células neoplásicas se alinean alrededor de los tabiques en forma de valla de estacas. Es frecuente observar diferenciación de células gigantes multinucleadas. En algunos casos se observa diferenciación de células claras que puede simular carcinoma de células claras o liposarcoma.

La variante sólida de rabdomiosarcoma alveolar no presenta estroma fibrovascular por lo que las células se disponen en sábana de células redondas con diferenciación rabdomioblástica variables. A veces se observan pequeños nidos, sobre todo en las muestras grandes. Los rasgos citológicos son los mismos en que en las lesiones típicas.

Los rabdomiosarcomas mixtos embrionarios/alveolares contienen focos con histología de rabdomiosarcoma embrionario, es decir, estroma mixoide y mioblastos fusocelulares, mezcladas con zonas de histología alveolar. Los focos alveolares suelen

contener nidos con estroma fibroso, aunque también pueden observarse focos sólidos, densamente celulares con aspecto linfomatoso.

Características inmunohistoquímicas

Los rabdomiosarcomas alveolares se tiñen con los anticuerpos antiproteínas musculares tal y como se describió de los rabdomiosarcomas alveolares, aunque los tumores muy primitivos pueden ser sólo focalmente positivos o ser negativos. Las tinciones del grupo Myo-D, sobre todo la miogenina, suelen mostrar una positividad nuclear intensa y difusa.

Características citogenéticas

Los análisis citogenéticos ponen de manifiesto la presencia de traslocaciones recidivantes que se asocian específica y constantemente con el rabdomiosarcoma alveolar. En la mayoría de los casos se observa una traslocación $t(2;13)(q35;q14)$, mientras que en un pequeño grupo de casos se encuentra una traslocación $t(1;13)(p36;q14)$. Estas traslocaciones provocan una yuxtaposición de los genes *PAX3* o *PAX7* en los cromosomas 2 y 1, respectivamente, con el gen *FKHR* en el cromosoma 13 que genera genes quiméricos que codifican las proteínas de fusión *PAX3/FKHR* y *PAX7/FKHR*. *PAX3* y *PAX7* son miembros relacionados de la familia de secuencias pareadas de factores de transcripción mientras que *FKHR* es un miembro de la familia de factores de transcripción de la cabeza de la horquilla. Los productos de fusión *PAX3/FKHR* (con mejor pronóstico) y *PAX7/FKHR* (con peor pronóstico) contienen el dominio de unión al ADN y el dominio de activación de la transcripción *FKHR*, por lo que funcionan como activadores de la transcripción en potencia. Además de este cambio funcional, las traslocaciones también alteran la expresión y la localización

subcelular de la vía reguladora generando gran cantidad de proteínas quiméricas que se encuentran constitucionalmente en el núcleo. Estos cambios maximizan la capacidad de estas proteínas quiméricas para activar el resto de la cadena de transcripción y, se afirma que tienen un efecto oncogénico alterando el control de la proliferación, de la apoptosis y la diferenciación.

Como parte del esfuerzo para encontrar otras alteraciones genéticas que colaboran en los acontecimientos de fusión genética en la oncogénesis del rabdomiosarcoma alveolar, se han realizado estudios de hibridación genómica comparativa que identifican varias amplificaciones. La más frecuente en el rabdomiosarcoma alveolar, que sucede casi en un tercio de los casos, afecta a las regiones cromosómicas 12q13-15 y 2p24. La región 12q13-15 contienen los genes asociados al crecimiento como *GLI*, *CDK4* y *MDM2*, mientras que la región 2p24 aloja el oncogen *MYCN* que está amplificado en varios tipos tumorales, como el neuroblastoma. Otras amplificaciones menos frecuentes se producen en las regiones cromosómicas 13q31, 2q34-qter, 15q24-26 y 1p36. El gen de fusión *PAX7/FKHR* está amplificado en la mayoría de los rabdomiosarcomas alveolares con la traslocación 1;13 en contraste con la amplificación menos frecuente de la fusión *PAX3/FKHR* con la traslocación 2;13.

El grupo de rabdomiosarcomas alveolares que no presentan el típico gen de fusión *PAX/FKHR* presenta características genéticas heterogéneas, observándose en algunos casos fusiones alternativas con otros genes o productos de fusión poco frecuentes y algunos casos no presentan fusiones.

c) RABDOMIOSARCOMA PLEOMÓRFICO

Definición y consideraciones generales

El rabdomiosarcoma pleomórfico es un sarcoma de alto grado que aparece casi exclusivamente en adultos y está constituido por células redondas, poligonales y fusiformes pleomórficas que muestran signos de diferenciación muscular esquelética. No muestran zonas de aspecto alveolar ni embrionario.

Estas lesiones se dan casi exclusivamente en adultos, son más frecuentes en varones y la edad media es de 60 años.

Se han descrito casos excepcionales en niños, pero su existencia es muy debatida.

Estos tumores suelen localizarse en partes blandas profundas de las extremidades inferiores pero se han publicado casos en localizaciones distintas, también retroperitoneal¹⁷⁷ como el caso incluido en la serie.

Características macroscópicas

Son tumores bien delimitados, generalmente grandes (5-15 cms.) y suelen estar rodeados por una pseudocápsula. La superficie de corte es blanquecina y firme con zonas variables de necrosis y hemorragia.

Características microscópicas

Estos sarcomas pleomórficos están constituidos por células redondas y fusocelulares indiferenciadas mezcladas con células poligonales con citoplasma intensamente eosinófilo de contorno fusiforme, en forma de renacuajo o de raqueta. Algunos observadores han clasificado las lesiones en “clásicas” (sábanas de rabdomioblastos pleomórficos), “de células redondas” y “fusocelulares”. Las estriaciones transversales son muy sutiles. Para el diagnóstico es necesaria la presencia

de rabdomioblastos poligonales pleomórficos en las tinciones de hematoxilina-eosina asociada a la tinción inmunohistoquímica positiva para al menos un marcador de músculo esquelético.

Características inmunohistoquímicas

Los rabdomiosarcomas pleomórficos, como otros tipos de rabdomiosarcoma expresan mioglobina, MyoD1, miogenina muscular específica, miosina rápida (de músculo esquelético) y desmina. Expresan de forma variable actina músculo-específica, actina de músculo liso y miogenina. Es interesante que la miogenina y el myoD1 expresan una positividad más limitada que en los rabdomiosarcomas pediátricos. No son positivos para marcadores epiteliales ni para proteína S100.

Características genéticas

Sólo se han publicado seis rabdomiosarcomas pleomórficos con aberraciones cromosómicas. Todos presentan cariotipos muy complicados y en ninguno de ellos se han detectado traslocaciones de tipo t(1;13) ni t(2;13).

Características ultraestructurales de los rabdomiosarcomas

En nuestra serie se han estudiado los rabdomiosarcomas en función del estroma laxo y mixoide que presentan lo que permite incluirlos en este estudio (según los criterios de inclusión descritos en el apartado de método), clásicamente, en la literatura, se ha revisado en profundidad la importancia del estudio ultraestructural para el diagnóstico de los rabdomiosarcomas (embrionario o alveolar) en el diagnóstico diferencial de los tumores de células redondas (como categoría diagnóstica morfológica general)^{14, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191}. En estos estudios, la

conclusión general es que la ultraestructura es una técnica útil para el diagnóstico, incluso, a veces, más que la inmunohistoquímica. También existen series ultraestructurales de diagnóstico diferencial de tumores pleomórficos, una de cuyas posibilidades diagnósticas es el rabdomiosarcoma pleomórfico^{14, 192, 193}.

Los rabdomiosarcomas presentan una gran variedad de rasgos ultraestructurales que se corresponden con el espectro de diferenciación rabdomioblástica que ya hemos descrito en el apartado de los rabdomiomas, fundamentalmente, haces de filamentos de 5 y 10 nm de grosor y filamentos finos con un punteado de bandas Z abortivas. El rasgo de diferenciación muscular estriada más primitivo es la presencia de filamentos de 15 nm en haces paralelos y ribosomas (complejos miosina-ribosoma). Las células más primitivas presentan rasgos de diferenciación inespecíficos, como presencia de lámina basal discontinua, colágeno fagocitado y ergastoplasma. Estas células indiferenciadas pueden contener lípidos o microfilamentos subplasmolemales. A veces pueden observarse fibrillas leptoméricas.

Los distintos tipos de células que pueden encontrarse en los rabdomiosarcomas son¹⁹⁴:

1-. Desarrollo de mioblastos diferenciados y células satélite:

-Células tumorales primitivas e indiferenciadas, son células pequeñas redondas con poco citoplasma que contienen escasos filamentos finos y filamentos intermedios.

-Células tumorales de tipo mioblástico, redondas o levemente fusiformes, con moderado citoplasma con filamentos finos e intermedios de distribución irregular y escasos filamentos gruesos.

-Células de tipo miotubo: células con forma de tira con filamentos finos y gruesos, material de banda Z y distintos estadios de organización miofibrilar.

-Mioblastos bien diferenciados: grandes células con las típicas estriaciones transversales que corresponden a sarcómeros bien diferenciados con bandas I (líneas Z con filamentos finos extendidos) y bandas A, que se subdividen en bandas H y M.

-Células satélite de ultraestructura característica, asociadas con mioblastos diferenciados por una membrana basal común.

2.-Desarrollo de mioblastos aberrantes y células gigantes:

-Mioblastos redondos: células con aumento del citoplasma que contiene filamentos finos y gruesos, líneas Z primitivas no organizadas en sarcómeros y sarcómeros no alineados.

-Grandes mioblastos redondos y células gigantes: células con abundante citoplasma que contiene filamentos finos y gruesos de distribución irregular, líneas Z primitivas y sarcómeros distribuidos a azar que no aparecen como estriaciones transversales en la óptica.

Otras características ultraestructurales inespecíficas que se han descrito en la literatura son estructuras paracristaloides rodeadas por membrana (que se han descrito como específicas del sarcoma alveolar de partes blandas)¹⁹⁵, y algunas que sugieren el diagnóstico como los núcleos de forma irregular, con proyecciones e invaginaciones, ribosomas libres asociados a filamentos, cisternas dilatadas de RER, glucógeno, lámina externa, nucleolo prominente y mitocondrias pleomórficas. Y otros rasgos inespecíficos: uniones pequeñas, vesículas pinocíticas, cilios paranucleares¹⁹⁶. Se ha descrito un caso en el que se observan microtúbulos en cisternas de RER²⁵.

De los hallazgos ultraestructurales de nuestra serie, los casos de PAAF observados en nuestro hospital y las descripciones de la literatura, podemos concluir que la imagen ultraestructural es diagnóstica de diferenciación rabdomioblástica en el caso de que se

cumplan las condiciones descritas también anteriormente (que no se trate de células atrapadas y que se excluya diferenciación heteróloga).

En muchos estudios ultraestructurales de rabdomiosarcomas una de las conclusiones principales es la relación existente entre sus características ultraestructurales^{197, 198, 199, 200} y bioquímicas^{201, 202} y las del desarrollo embrionario del músculo esquelético normal. Uno de estos estudios aporta las diferencias entre ambos²⁰³, que consisten en que las neoplasias cuentan con la presencia de menos células multinucleadas y la ausencia de elongación celular y de efecto en la orientación de las miofibrillas y la evidencia de mayor número de miofilamentos en células mononucleadas.

En nuestra serie hemos observado, tal y como se describe en el apartado de resultados, una distribución perivascular de células indeterminadas (CPI, similares a rabdomioblastos indiferenciados), en pequeñas trabéculas similares a las descritas como prelipoblastos y en otras entidades. Son pocos casos en la serie, pero es similar al tipo celular observado en otras entidades de la serie estudiada, lo que nos hace pensar que pudiera tratarse de un elemento común en distintas neoplasias mesenquimales y quizá una célula pluripotencial.

En las descripciones ultraestructurales de rabdomiosarcomas revisadas, ya hemos visto que se habla de distintos tipos celulares entre los que frecuentemente se incluye una célula indiferenciada sin rasgos rabdomioblásticos que podría equipararse a las observadas en esta serie, pero cuya relación con los vasos no ha sido especificada^{25, 194, 197, 204, 205, 206, 207, 208}.

El hecho de que muchos sarcomas heterólogos o desdiferenciados con elementos heterólogos e incluso tumores epiteliales²⁰⁹, muestren diferenciación rabdomioblástica,

sugiere en estos estudios la presencia de células mesenquimales comunes a las distintas líneas de diferenciación (pluripotenciales)^{153, 210, 211, 212, 213, 214, 215}.

En resumen, podemos concluir:

-que la imagen ultraestructural es diagnóstica de diferenciación rabdomioblástica, con lo que se puede diagnosticar un tumor como rabdomioblástico si se dan los criterios de exclusión de célula atrapada y elemento heterólogo.

-que la imagen ultraestructural de los rabdomiosarcomas es equiparable al desarrollo embrionario del músculo esquelético.

-que el único signo ultraestructural que sirve para diferenciar los tumores benignos de los malignos es la irregularidad nuclear.

-la presencia de células indiferenciadas (CPI) y el hecho de que existan múltiples líneas de diferenciación en un mismo tumor (tumores desdiferenciados o con elementos heterólogos) además de las metaplasias mioides descritas experimentalmente, sugieren la posibilidad de que existan células mesenquimales pluripotenciales que sean el origen de varias líneas de diferenciación, que en el caso de los tumores rabdomioblásticos que hemos estudiado, se ve apoyado por la observación de células con características de diferenciación intermedia.

-el patrón perivascular de las CPI observado en nuestros casos (no descrito en la literatura) y también en otras entidades en esta serie, sugiere que las posibles células mesenquimales pluripotenciales tengan relación con los vasos (elemento común a los distintos tipos de tumor).

5. TUMORES CONDRALES

En este apartado se incluyen en la serie, un condroma de partes blandas y un condrosarcoma esquelético.

En nuestros casos las conclusiones ultraestructurales más importantes que podemos destacar al compararlos con la literatura son:

que la matriz condral presenta características ultraestructurales diagnósticas específicas, a diferencia del resto de entidades estudiadas en esta serie en las que la matriz mixoide típica es inespecífica. Los tumores condrales se caracterizan por presentar un área clara alrededor de las células y en el resto, escasos haces de colágeno y finos gránulos correspondientes a proteoglicanos. Mientras que la matriz mixoide no presenta ultraestructuralmente grandes diferencias entre los tumores mesenquimales y epiteliales y muestra un material muy débilmente electrodensos con aislados haces de colágeno²¹⁶. Un rasgo muy importante en la identificación de células condrales lo supone la matriz en la que se encuentran inmersas. Se trata de una matriz compuesta por agua, proteoglicanos y colágeno que muestra dos componentes diferenciados una zona pericelular o territorial que las técnicas estándar de deshidratación sin sustitución aparece prácticamente vacía y otra intercelular más rica en filamentos, fibras de colágeno y gránulos²¹⁷. La identificación de esta matriz es frecuentemente esencial en el diagnóstico de diferenciación condral ya que las células aisladas tienen un aspecto semejante al de otros tipos células mesenquimales²¹⁸. En este sentido se acepta que el fibroblasto, el condroblasto y el osteoblasto son células íntimamente relacionadas.

Las células con diferenciación condroblástica muestran: - núcleos multilobulados o de forma irregular con una membrana nuclear fibrosa y prominente. –

- Microvilli superficiales muy numerosos. – Cisternas de RER ramificadas. – Abundantes mitocondrias. – Múltiples complejos de Golgi de pequeño tamaño. –

Abundantes filamentos intermedios difusos (de vimentina). – Presencia de ocasionales grupos de partículas de glucógeno y vacuolas grasas aisladas²¹⁹. El hallazgo de lagos de glucógeno no es constante pero cuando aparece tiene gran valor en la diferenciación del fibroblasto.

En los casos de nuestra serie, el condroma mostraba características ultraestructurales diagnósticas de diferenciación condral (tal y como se han descrito previamente), mientras que en el caso del condrosarcoma esquelético, la imagen ultraestructural sólo permitía sugerir el tipo de diferenciación.

6. TUMORES DE DIFERENCIACIÓN INCIERTA

A) MIXOMAS

Se trata en este apartado de aquellos tumores que se definen como grupo porque tienen en común el estar constituidos por escasas células pequeñas sin atipia en el seno de un abundante estroma mixoide, compuesto casi siempre por ácido hialurónico, a los que nos referimos en general como el grupo de los mixomas. Estos tumores suelen presentar cierta tendencia a la recidiva local pero no a producir metástasis. En muchas de estas lesiones todavía no está claro si se trata de verdaderas neoplasias o de alteraciones metabólicas o reacciones locales. La entidad mejor estudiada del grupo es el mixoma intramuscular. Por convenio, también se incluyen en este grupo los angiomixomas aunque se diferencian del resto por su densa vascularización. Por definición, las lesiones incluidas en este grupo sólo presentan diferenciación fibroblástica o miofibroblástica.

Según Enzinger⁵⁶, la ausencia de crecimiento progresivo, la pobreza de estructuras vasculares (no en el caso de los angiomixomas) y la aparente inmutabilidad de las células tumorales, hacen altamente improbable que se trate de neoplasias del mesénquima primitivo (según la definición de Stout²²⁰). Stout define los mixomas como aquellas neoplasias constituidas por células estrelladas en el seno de un estroma mucoide atravesado por una trama fina de fibras de reticulina en distintas direcciones. Por tanto y en otras palabras, aquellas neoplasias que remedan el mesénquima primitivo. También han puesto de manifiesto esta similitud otros autores. El hecho de que el mixoma y el mesénquima primitivo compartan una gran cantidad de ácido hialurónico en la matriz apoya según Stout el que el primero sea la contrapartida neoplásica del segundo. Según Enzinger, sin embargo, lo que más parece es que las lesiones benignas mixoides del corion y del tejido subcutáneo se originan en

fibroblastos modificados que producen cantidades excesivas de glucosaminglicanos, lo que a su vez, como se ha demostrado experimentalmente, inhibe la polimerización del colágeno normal. No hay datos convincentes sobre el papel de los traumatismos en el origen de los mixomas. La asociación ocasional con displasias fibrosas, sugieren que el origen es un error localizado en el metabolismo tisular.

b) MIXOMA YUXTA-ARTICULAR

Definición

Los mixomas yuxta-articulares son similares morfológicamente a los mixomas intramusculares, pero se localizan en la inmediata proximidad de las grandes articulaciones, suelen presentar degeneración quística del cartílago articular adyacente. En nuestra serie se incluyen 4 casos.

Características clínicas

Tal y como su nombre indica, los mixomas yuxta-articulares suelen originarse en torno a las grandes articulaciones, fundamentalmente de la rodilla. Se han descrito casos más raros que afectan al hombro, el codo o la cadera²²¹. Se trata casi siempre de adultos, con una llamativa preponderancia en varones y un pico de incidencia entre la cuarta y la sexta décadas. La mayoría de los casos miden menos de 5 cms. y suelen asociarse a cambios degenerativos en la articulación adyacente, sobre todo quistes meniscales; puede que por esta razón suelen ser dolorosos. Aunque estas características sugieren que se trate de un proceso reactivo, según algunos autores que los incluyen como seudosarcomas²²², su tendencia a la recidiva contradice esta posibilidad. En estas lesiones, a diferencia de los mixomas intramusculares, no se han observado mutaciones

que las generen²²³, pero sí alteraciones cromosómicas clonales, lo que también apunta hacia la posibilidad de que se trate de neoplasias²²⁴.

Características macro- y microscópicas

En la mayoría de los casos estas lesiones son morfológicamente indistinguibles del mixoma intramuscular a no ser por su localización anatómica. Sin embargo, unos pocos casos muestran una mayor celularidad en ausencia de atipia. Probablemente debido a su mayor exposición a la movilización, así como su proximidad a una articulación frecuentemente lesionada, los mixomas yuxta-articulares sí suelen presentar focos de inflamación, hemorragia o fibrosis, a diferencia de los mixomas intramusculares.

Técnicas especiales

Los hallazgos son superponibles a los observados en los mixomas intramusculares. Las tinciones histoquímicas para mucinas, incluida la antes muy popular técnica de azul Alcían a concentración electrolítica crítica, muestran, como en la mayor parte de los mixomas benignos, que la matriz está constituida por ácido hialurónico. Hay autores que opinan que las técnicas de histoquímica no aportan datos diagnósticos²²⁵, mientras que otros sí las utilizan en el diagnóstico diferencial²²⁶.

Las técnicas de inmunohistoquímica sólo son positivas para vimentina; aunque puede observarse positividad débil de algunas células para actina, tratándose posiblemente éstas de miofibroblastos. Tal y como se puede prever, los mucífagos presentan un perfil inmunohistoquímico de macrófagos, siendo positivos a marcadores como el CD68. Es importante, que la S100 es siempre negativa²²⁷.

Características ultraestructurales

En nuestros casos se observan los mismos hallazgos ultraestructurales que en la literatura. La matriz mixoide es inespecífica y las células presentan diferenciación fibroblástica y miofibroblástica con abundantes características secretoras (gran desarrollo de cisternas de RER, aparato de Golgi y filamentos intracitoplasmáticos, sobre todo en las células con diferenciación miofibroblástica). También se han observado células más inmaduras que, en nuestros casos, presentaban algunos rasgos de diferenciación miofibroblástica (presencia de filamentos finos con cuerpos densos en el citoplasma) y sólo en un caso se agrupaban en trabéculas pequeñas de localización perivascular, es decir CPI como las que hemos descrito en otras entidades. Estos hallazgos son similares a los de mixomas intramusculares en la literatura, en éstos la microscopía electrónica muestra diferenciación fibroblástica o miofibroblástica²²⁸ y se han descrito algunos casos²²⁹ que ultraestructuralmente mostraban estas dos líneas de diferenciación y células mesenquimales primitivas y otros casos en los que se observan además de células mesenquimales primitivas, células de aspecto histiocitario²³⁰. Se han descrito casos en los que el diagnóstico definitivo pudo realizarse por los hallazgos ultraestructurales, como por ejemplo un caso de mixoma intramuscular que fue diagnosticado histológicamente de perineuroma²³¹. Otro estudio ultraestructural al respecto⁴¹ se refiere a que también la microscopía electrónica sirve para el diagnóstico diferencial con los liposarcomas. La ultraestructura del mixoma intramuscular demuestra que la célula principal es el fibroblasto con gran desarrollo de cisternas de RER, aparato de Golgi y filamentos citoplasmáticos. No suelen verse gotas de grasa intracitoplasmáticas. La matriz contiene un material finamente granular, fibras de colágeno, fibrillas y escasos capilares. A diferencia del liposarcoma en el que las células tienen más grasa, los lipoblastos se encuentran más cerca de los vasos y la matriz

presenta más capilares. Este estudio confirma la teoría de Enzinger de que la célula de origen del mixoma intramuscular es el fibroblasto, como célula productora del exceso de mucopolisacáridos de la matriz. En la literatura, se describe la ultraestructura de los mixomas yuxtarticulares como superponible a la de los mixomas intramusculares.

c) ANGIOMIXOMA AGRESIVO

Definición

El angiomixoma agresivo es un tumor localmente infiltrante, que suele originarse en el tejido blando de la pelvis y el periné. Está constituido por fibroblastos y miofibroblastos y numerosos vasos sanguíneos, a veces de paredes gruesas, en el seno de una abundante matriz mixoide²³².

Consideraciones generales

El angiomixoma agresivo se diferencia de otras lesiones del grupo de los mixomas por su crecimiento infiltrativo y su tendencia a la recidiva. Puede localizarse fuera de la pelvis y también puede darse en varones. Cada vez parece más probable que el angiomixoma agresivo, al menos en la mayoría de los casos, se diferencia hacia estroma genital especializado.

Características clínicas

El angiomixoma agresivo afecta casi exclusivamente a adultos entre la tercera y la quinta década de su vida, sobre todo a mujeres. Aproximadamente un 5 por ciento de los casos se producen en hombres; se han publicado casos muy raros en niñas antes de la menstruación y en mujeres postmenopáusicas. La localización más frecuente es en la región pélvico-perineal.

Características macro- y microscópicas

Macroscópicamente, el angiomixoma agresivo suele superar los 10 cms. de diámetro máximo; a veces alcanza diámetros superiores a los 20 cms. Son raros los casos que miden menos de 5 cms. La mayoría de los casos tienen un patrón lobulado, asociado a proyecciones digitiformes hacia el tejido adyacente y está constituido por un tejido gelatinoso o gomoso de color gris-rosado o amarillento. Suele ser imposible delimitar con precisión los bordes macroscópicos.

Histológicamente, las células neoplásicas son pequeñas y uniformes, de morfología fusocelular o estrellada, con citoplasma eosinófilo pálido y mal definido y núcleo sin atipia y vesiculoso. Estas células se encuentran en el seno de una abundante matriz mixoide que contiene un número variable de vasos grandes o medianos, de forma redondeada cuyas paredes son gruesas y, a menudo, se encuentran hialinizadas, al menos focalmente. También es frecuente encontrar en el estroma, en torno a los vasos, haces de miocitos lisos que parecen esparcirse en el estroma, así como fibras de colágeno y mastocitos. Los bordes de la lesión son infiltrantes e indefinidos, por lo que es frecuente observar tejido adiposo, nervios o músculo liso vulvovaginal atrapados y, menos frecuentemente tejido glandular. Otras características menos frecuentes, que sólo aparecen en una minoría de casos son, la presencia de aisladas células multinucleadas similares a las que aparecen en los pólipos estromales y focos de aspecto morfológico similar al angiomiofibroblastoma.

Técnicas especiales

El perfil inmunohistoquímico de las células es positivo para vimentina y actina en todos los casos y para desmina en casi todos. Algunos autores han demostrado tinción positiva tanto para receptores de estrógenos como de progesterona. La S100 es negativa.

El análisis citogenético en un caso demostró una traslocación t(5;12) con afectación de la misma región 12q14-15 que en los lipomas y leiomiomas uterinos.

Características ultraestructurales

En una de las series que estudian estos tumores, se observó que estaban constituidos por células estromales probablemente únicas en esta región anatómica y que expresan típicamente rasgos fibroblásticos y/o miofibroblásticos. En sus casos se observaban además rasgos de diferenciación muscular lisa²³³. En casos estudiados mediante ultraestructura²³⁴, se observan células fusiformes que contienen en el citoplasma cisternas de RER, mitocondrias y filamentos intermedios sin cuerpos densos, con membranas celulares con micropinocitosis y pliegues membranosos complejos, a veces sin lámina basal. Los núcleos son alargados con indentaciones. Los vasos muestran una membrana basal reduplicada y están rodeados de pericitos hinchados. Una de las conclusiones de este estudio es que los angiomixomas agresivos, tal y como sugieren Seeper y Rosai, derivan del estroma vascular mixoide característico de la región genital, observándose expresión de receptores de estrógenos y progesterona en condiciones normales y en células neoplásicas. Las prominentes células pericíticas y las células estromales fusocelulares pueden representar las dianas hormonales, en esta publicación demuestran intensa positividad para receptores hormonales en ambos tipos celulares. Hay otros estudios ultraestructurales que confirman la existencia de tres tipos

celulares (fibroblástico, miofibroblástico y muscular liso) concluyendo que se originan en el estroma mixoide especializado de la región genital²³⁵.

Del estudio de nuestros casos pueden sacarse varias conclusiones²³⁶ (ver ANEXO 2: ARTÍCULO). Ya hemos descrito en ellos que se observaban células indeterminadas perivasculares y en zonas más alejadas de los vasos, células más diferenciadas (en la línea fibroblástica/miofibroblástica/muscular lisa). En nuestros casos, el estudio ultraestructural muestra un espectro de diferenciación desde las células perivasculares indiferenciadas a elementos más distantes con rasgos sutiles pero evidentes de diferenciación muscular lisa. Los hallazgos inmunohistoquímicos en estos casos no son diagnósticos de diferenciación muscular pero no la contradicen, además, ninguno de los casos mostraba buena diferenciación muscular lisa sin sólo sutil. Ya en este artículo se expone la hipótesis general de este estudio, esto es, que se observa un gradiente de diferenciación en distintos tipos tumorales en nuestra serie, en algunos aceptado ampliamente en la literatura (como es el caso de los liposarcomas mixoides), cuyo extremo más indiferenciado es una célula perivascular de características ultraestructurales indeterminadas, que podría corresponder a las hipotéticas células mesenquimales pluripotenciales a las que hacen referencia la mayoría de los estudios histogenético de los tumores de partes blandas. El hecho de que éstas sean identificables en los tumores mixoides es atribuible a que la abundancia de matriz facilita la identificación aislada de cada célula y su relación con el resto de los elementos del tumor (vasos y otras células).

d) ANGIOMIXOMA SUPERFICIAL

Definición

El angiomixoma superficial es una lesión subcutánea o dérmica, multilobulada y constituida por fibroblastos y vasos de pared fina en una matriz mixoide. Más de un tercio de los casos contienen un componente epitelial anexial.

Características clínicas

Los angiomixomas superficiales suelen darse en adultos, con una distribución homogénea por sexos y un pico de incidencia entre la cuarta y la sexta décadas. Se han descrito algunos casos en niños. La mayoría de los casos se presentan como un nódulo solitario, dérmico o subcutáneo y de crecimiento lento, que suele medir menos de 3 ó 4 cms. y cuya localización más frecuente es el tronco, región genital o de cabeza y cuello y con menor frecuencia las extremidades. En un pequeño grupo de pacientes las lesiones son múltiples, lo que debe siempre hacer sospechar clínicamente que se trate de un complejo de Carney. La presencia de un angiomixoma superficial en el oído externo es casi patognomónica de esta condición²³⁷.

Características macro- y microscópicas

Histológicamente, el angiomixoma superficial se localiza casi siempre en la dermis extendiéndose desde ella al tejido subcutáneo. Tiene un patrón de crecimiento multilobulado con bordes bastante indefinidos y está constituido por fibroblastos fusiformes o estrellados, sin atipia y vasos finos y alargados en el seno de una abundante matriz mixoide. Suelen encontrarse fibroblastos multinucleados aislados. No hay atipia citológica ni pleomorfismo pero pueden encontrarse mitosis aisladas. El estroma suele contener un infiltrado inflamatorio mixto en el que abundan los neutrófilos, a pesar de la ausencia de ulceración ni necrosis.

Más de un tercio de los casos contienen un componente epitelial, ya sea en la lesión primaria o en la recidiva, que suele deberse a una inducción por parte del tumor o a estructuras anexiales o epitelio escamoso atrapados. Este componente suele corresponder a un quiste epidérmico, bandas finas de células escamosas o pequeñas yemas de células basalioides.

Técnicas especiales

La inmunohistoquímica sólo presenta positividad constante para vimentina y variable para CD34, actina de músculo liso y muscular específica y factor XIIIa.

Características ultraestructurales

En los pocos casos estudiados ultraestructuralmente²³⁸, se observó una matriz con abundantes proteoglicanos mezclada con fibras de colágeno y fibroblastos estromales distribuidos al azar, con núcleos irregulares con eucromatina y un nucleolo prominente central. El citoplasma de estas células se caracteriza por la presencia de abundantes cisternas de RER, mitocondrias y aparato de Golgi. No se observaron miofibroblastos en estos casos ni rasgos de diferenciación condral o de vaina de nervio periférico²³⁹.

e) TUMOR FIBROMIXOIDE OSIFICANTE²⁴⁰

Definición

El tumor fibromixoide osificante es una entidad rara de origen incierto, constituida por cordones y trabéculas de células ovoides inmersas en una matriz fibromixoide que suele estar rodeada parcialmente por una cápsula de hueso laminar. A veces, la lesión puede presentar un fenotipo maligno.

Consideraciones generales

Afecta más frecuentemente a varones (64%) que a mujeres. Tiende a producirse en adultos en edades comprendidas entre los 14 y los 79 años con una edad media de 50 años.

Aproximadamente el 70% de los casos se originan en las extremidades. Otras localizaciones posibles son el tronco, la cabeza y cuello, la cavidad oral, el mediastino y el retroperitoneo.

Características macroscópicas

La mayoría de las lesiones miden entre 3 y 5 cms. de diámetro mayor con un tamaño medio de 4 cms. Algunos casos son de mayor tamaño, hasta de 17 cms. Los tumores fibromixoides osificantes son bien delimitados, nodulares o multinodulares y están revestidos por una pseudocápsula fibrosa gruesa con o sin concha ósea. Al corte, son blanco-amarillentos y de consistencia firme, pétreo o gomoso.

Características microscópicas

El tumor fibromixioide osificante está constituido por lóbulos de células uniformes de morfología fusiformes a oval que se disponen en nidos y cordones en el seno de una matriz fibromixioide variable. Aproximadamente el 80% de las lesiones están rodeadas por una cápsula incompleta de hueso laminar metaplásico (hipocelular), mientras que el 20% restante no presentan cápsula ósea (variante no-osificante). Las células neoplásicas son monomorfas con núcleos redondos a ovales, nucleolos poco aparentes y citoplasma escaso. Suelen encontrarse menos de 1 mitosis por 10 campos de gran aumento. El estroma es muy variable, pudiendo predominar la matriz mixioide (azul alcian positiva, sensible a hialuronidasa) o colágena hialinizada con una prominente

vascularización con hialinización perivascular. A veces se identifican calcificaciones o nódulos de cartílago metaplásico.

Características inmunohistoquímicas

Típicamente son positivos para vimentina y S100 (70%). A menudo son también positivos para desmina y Leu-7, enolasa neuronal específica, proteína glial fibrilar ácida y actina de músculo liso (más raro). En casos raros se observa positividad focal para queratinas.

Características citogenéticas

Sólo se ha analizado un caso de tumor fibromixioide osificante que presentaba un cariotipo hipodiploide caracterizado por una der(6;14)(p10;q10) y una add(12)(q24).

Características ultraestructurales

Los citoplasmas contienen abundante RER, a veces con cisternas dilatadas, un número moderado de mitocondrias y numerosos microfilamentos que a veces se agrupan en la región perinuclear. Se han descrito complejos ribosómicos-laminares. Muchas células muestran una duplicación parcial de la lámina externa y, a veces, prolongaciones complejas interdigitadas. En nuestros casos se observa diferenciación fibroblástica y miofibroblástica con algunas CPI formando trabéculas también en esta entidad tal y como hemos discutido ya en otras. No hemos encontrado descripciones ultraestructurales en la literatura de esta entidad en la que aparezcan estas células.

Conclusiones

Los mixomas no cardíacos, angiomiomas y tumores fibromixoides osificantes se deberían incluir por su línea de diferenciación (ultraestructural en nuestro estudio, pero también inmunohistoquímica), en el grupo de tumores fibroblásticos/miofibroblásticos, según lo observado en nuestros casos y la literatura revisada.

Quizá las entidades en las que es más demostrativa la variada diferenciación celular es en los mixomas, entre los que hemos observado células indiferenciadas, indeterminadas perivasculares, fibroblastos, miofibroblastos, células musculares lisas. En este grupo se observa también una marcada relación de las células neoplásicas y los vasos.

f) MIXOMA CARDÍACO²⁴¹

Definición

Se trata de una lesión constituida por una matriz mixoide abundante en cuyo seno se observan cordones, nidos y pseudohendiduras vasculares de células estrelladas o poligonales sin atipia.

Consideraciones generales y características clínicas

Constituyen aproximadamente el 50% de las neoplasias cardíacas primarias en general y más del 80% en las series quirúrgicas. La localización más frecuente es la aurícula izquierda (75-80%), seguida de la aurícula derecha y los ventrículos. Se han identificado tanto casos esporádicos como familiares. El síndrome del mixoma (LAMB) incluye, además de mixomas cardíacos múltiples, lesiones cutáneas y mucosas (lentiginosis, nevus azules y mixomas), mamarias (mixofibroadenomas) y endocrinológicas (hiperplasia cortical suprarrenal, adenomas hipofisarios, tumores de

células de Sertoli testiculares y schwannomas psamomatosos melanóticos). Se trata de una alteración autosómica dominante con heterogeneidad genética. La presentación clínica depende de la localización del tumor. Al ser más frecuente en la aurícula izquierda, su presentación más frecuente son signos clínicos de estenosis o insuficiencia mitral y embolización sistémica. También pueden producirse síntomas dependientes de las válvulas derechas, pericarditis, fiebre de origen desconocido y muerte súbita. El diagnóstico clínico se realiza mediante la ecocardiografía ante la sospecha clínica por un soplo cardíaco que cambia con la posición del paciente, o también mediante tomografía computerizada y resonancia magnética. Al estudiar trombos obstructivos de arterias periféricas, sobre todo en pacientes jóvenes, el patólogo siempre debe descartar la posibilidad de que se trate de un émbolo de un mixoma auricular.

Características macroscópicas

Son variables macroscópicamente, pueden tener forma de bola, ser lobulados, alargados o papilares, lo que se observa mejor al sumergirlos en agua. La superficie de corte suele ser gelatinosa, amarillenta o hemorrágica con zonas de degeneración y, a veces, de calcificación que puede llegar a ser extensa.

Características microscópicas

El estudio microscópico muestra una abundante matriz de mucopolisacáridos en cuyo seno se observan células dispersas redondeadas o estrelladas con aspecto de células mesenquimales primitivas y que, a veces, se distribuyen en cordones. En raras ocasiones, se observan formaciones glandulares. Es frecuente encontrar una cantidad variable de células inflamatorias.

En general, se acepta que el mixoma cardíaco es realmente una neoplasia más que un trombo organizado, sobre todo debido a los estudios de cultivos tisulares. Además se han descrito casos que han producido metástasis^{242, 243}, aunque en estos casos se dudaba de la posibilidad de que se tratara realmente de émbolos en otros tejidos.

Características inmunohistoquímicas

Las pruebas inmunohistoquímicas ofrecen resultados variables. Las células estromales suelen ser positivas para vimentina y alfa1-antitripsina, pero negativas para Kp-1. La tinción para actina muscular lisa y marcadores neurales es variable. Los componentes glandulares que a veces aparecen son positivos para marcadores epiteliales. Se observan células positivas para factor VIII lo que algunos autores han interpretado como sugestivo de origen en células endocárdicas/endoteliales. Otros autores han observado que estas células positivas para factor VIII están en continuidad con el revestimiento celular de la superficie del mixoma.

Características ultraestructurales

El estudio ultraestructural muestra células mesenquimales, endoteliales y musculares lisas; La interpretación más generalizada de estos hallazgos es que la célula de origen es una célula mesenquimal pluripotencial. En cualquier caso, las descripciones ultraestructurales en la literatura son muy abundantes, así como las interpretaciones histogenéticas de las mismas.

En un estudio de 17 casos con correlación histológica y ultraestructural²⁴⁴, se describen histológicamente células aisladas en lagunas, cordones y agregados de tipo vascular e incluso grupos entrelazados que ultraestructuralmente, se correspondían con células mesenquimales indiferenciadas con hendiduras y revestimiento celular continuo.

La microscopía electrónica de barrido muestra una matriz con abundantes fibras entrelazadas formando una red esponjosa. Mediante esta técnica, algunos estudios²⁴⁵ han demostrado diferencias entre la superficie de estos tumores y los trombos cardíacos. Los mixomas muestran una superficie lisa o con prolongaciones revestidas por endotelio y contienen células, mientras que los trombos no presentan revestimiento y no contienen más que elementos sanguíneos y fibras.

Otros estudios, ultraestructurales e inmunohistoquímicos también aportan una interpretación histogenética de la lesión. La ultraestructura muestra dos tipos de células: - células estrelladas con pocos orgánulos y filamentos que forman una red de prolongaciones; - células con mayor número de orgánulos, filamentos intermedios y miofilamentos dispuestos de forma aislada o en cordones sólidos (similares a las trabéculas de CPI descritas en nuestra serie) o huecos. Estos autores concluyen que los mixomas cardíacos derivan de una célula mesenquimal pluripotencial de reserva capaz de diferenciarse en dos líneas: mioide y endotelial. Este tejido tumoral parece ser el implicado en la formación de vasos con un patrón de crecimiento similar al de otras formas de reacción patológica endocárdica en el que también intervienen estas células de reserva^{243, 246, 247, 248, 249}.

Esta teoría histogenética se acercaría en cierta medida, a los hallazgos generales de nuestro estudio en el observamos en distintos tipos de tumor una relación entre células mesenquimales primitivas, posiblemente de reserva o pluripotenciales (ya que no tienen rasgos determinados de diferenciación y son comunes a distintos tumores) en relación con estructuras vasculares. En algunas entidades como por ejemplo, los angiomixomas, los mixomas cardíacos, los mixofibrosarcomas adquieren una diferenciación progresiva en el espectro del fibroblasto/miofibroblasto/miocito liso (ver apartado de Miofibroblastos) que, por otro lado, es la línea de diferenciación del tejido

mixoide no neoplásico, la gelatina de Wharton, donde también se observan células indeterminadas en relación con los vasos, en los casos estudiados y en la literatura.

Otras células similares de características indeterminadas y en relación con vasos y con fibroblastos y miofibroblastos, se han descrito en lesiones no neoplásicas como la arteriopatía plexogénica pulmonar²⁵⁰, en la que ultraestructuralmente, se describen tres tipos celulares: fibroblastos, miofibroblastos y “células fibrilares”, en estos estudios, se describen estas células como estromales que rodean espacios vasculares y que fagocitan fibrina y organizan la cicatriz fibrosa de la lesión plexiforme. Además, las describen como similares a las células vasoformativas de reserva, a las células del mixoma cardíaco y a las células del “tumor papilar”²⁵¹ de las válvulas cardíacas, con la hipótesis de que podrían corresponder a células primitivas pluripotenciales del sistema cardiovascular.

En otros tipos de mixoma (de la mama)²⁵², se han descrito células de distribución perivascular indeterminadas con posible diferenciación mioepitelial o pericítica.

Otros estudios^{253, 254}, sin embargo, están más a favor de que se trate de células endoteliales que de células mesenquimales pluripotenciales y relacionan a estos tumores con la presencia de trombos.

En cualquier caso, estas células muestran una intensa actividad secretora de glucosaminglicanos y proteoglicanos²⁵⁵. Otros hallazgos ultraestructurales inespecíficos en mixomas cardíacos son, por ejemplo, la presencia de inclusiones cristalinas intracisternales citoplasmáticas con una periodicidad de 10 nm²⁵⁶.

Además de las interesantes consideraciones histogenéticas expuestas en relación con esta entidad, también podemos concluir que la imagen ultraestructural del mixoma cardíaco es diagnóstica y útil en el diagnóstico diferencial de otras lesiones de estroma mixoide²⁵⁷.

B) CONDROSARCOMA MIXOIDE EXTRAESQUELÉTICO.

Definición

El condrosarcoma mixoide extraesquelético es un tumor de partes blandas profundas, totalmente diferente del condrosarcoma esquelético convencional con degeneración mixoide^{258, 259}. Fue descrito como entidad clínico-patológica en 1972 por Enzinger y Shiraki²⁶⁰ como un sarcoma constituido por células condroides primitivas en el seno de una abundante matriz mixoide que simula el cartílago embrionario, aunque en la actualidad no se considera un tumor de diferenciación condral, no sabiéndose exactamente cuál es la línea de diferenciación que presenta.

Características clínicas

Se dan más frecuentemente en varones (2:1) de edad media (media de 52 años, rango entre 6 y 89). Aunque también se han descrito casos en niños y adolescentes²⁶¹. Son de tamaño variado (media de 7 cm. rango entre 1,1 y 25 cm). Se localizan más frecuentemente en el tejido celular subcutáneo profundo, en la fascia muscular o afectando el músculo, en la porción proximal de las extremidades (80% de los casos) aunque también se pueden encontrar en el tronco (20%)²⁶². Se han descrito casos de localización excepcional, en tiroides²⁶³, en los dedos²⁶⁴, e incluso un caso pleural con antecedentes clínicos de exposición a asbesto²⁶⁵.

Características macroscópicas

Se trata de un tumor con superficie de corte gelatinosa, lobulado y aparentemente bien delimitado, contenido por una pseudocápsula fibrosa.

Características microscópicas

Se trata de un tumor con un patrón morfológico característico y constante de células pequeñas de citoplasma eosinófilo, que forman pequeñas trabéculas; en algunas zonas las células se hacen fusiformes pero conservan el monomorfismo. Este patrón diagnóstico se observa en todos los casos descritos en la serie de Meis-Kindblom, al menos focalmente; en un 29% de los casos en esta serie, se observan focos sarcomatosos (similares a sarcoma de Ewing, a sarcoma sinovial monofásico, sarcoma pobremente diferenciado, fibrosarcomas e incluso tumor rabdoide) o celulares, similares a condroblastoma. Otros autores también refieren la aparición de zonas fusocelulares²⁶⁴ y de zonas celulares, incluso de patrón de crecimiento sólido²³ y, a pesar de definirse como un sarcoma de bajo grado citológico, también se han descrito variantes de alto grado como sarcomas de morfología epitelioides que asocian zonas características de condrosarcoma mixoide extraesquelético²⁶⁶. A pesar de ser citológicamente un sarcoma de bajo grado, presentan un elevado porcentaje de recidiva local (48%) y de metástasis a distancia (46%). Los factores predictores del comportamiento agresivo son clínicos (tamaño del tumor, localización y edad de presentación) habiéndose descartado que variables histológicas como la necrosis, la hipercelularidad, el pleomorfismo, el número de mitosis, la presencia de células epitelioides, rabdoides o fusocelulares y los índices de bcl-2, pcNA o Ki-67, puedan predecir el pronóstico. En el diagnóstico diferencial histológico se incluyen otros tumores de matriz mixoide como el tumor mixto, el lipoma condroide, el liposarcoma mixoide, el mixofibrosarcoma, el sarcoma fibromixoide de bajo grado, el tumor fibromixoide osificante de partes blandas y el fibrosarcoma epitelioides esclerosante mixoide.

Características inmunohistoquímicas

El único marcador constante es la vimentina. Una minoría de tumores y sólo focalmente pueden ser positivos para proteína S100, citoqueratina y EMA^{264, 267}. También en algunos tumores se puede observar expresión de sinaptofisina y enolasa neuronal específica.

Ante este panel inmunohistoquímico descrito en la literatura, se puede comprender mejor la superposición existente entre los casos de condrosarcoma mixoide extraesquelético y los casos de paracordoma (como ocurre con nuestros hallazgos ultraestructurales que son idénticos), puesto que el dato que los diferencia sería la positividad para proteína S100 de los paracordomas y la mayor prominencia de vacuolización de las células también en los paracordomas, rasgo que recuerda a las células fisalíferas de los cordomas.

Características citogenéticas

Recientemente se ha descrito la traslocación t(9;22)(q22;q12) de manera constante asociada a este tipo de tumores, sin que se haya encontrado en ningún otro, por lo que se admite como alteración cromosómica patognomónica que relaciona el gen EWS (22q12) con un gen recientemente secuenciado, el TEOCHN (9q22). En otros casos se ha encontrado otro tipo de traslocación t(9;17)(q22;q11) que probablemente represente un nuevo subgrupo citogenético de condrosarcoma mixoide extraesquelético ya que no se ha encontrado en ningún otro contexto^{262, 268, 269}. Sin embargo, los paracordomas no presentan la traslocación característica de este tumor a pesar de que su imagen ultraestructural es idéntica en nuestra serie.

Características ultraestructurales

La ultraestructura muestra como rasgo más constante la aparición de trabéculas o grupos de células poligonales con ocasionales prolongaciones irregulares^{260, 268, 270, 271}; las uniones son sólo ocasionales y de tipo inespecífico; La lámina externa es siempre escasa²⁶⁶. Los citoplasmas tienen como dato más característico RER dilatado y en un 30% de los casos con túbulos paralelos y abundantes mitocondrias; puede encontrarse glucógeno pero no es muy abundante. Los núcleos no aportan hallazgos significativos. La matriz es de tipo mixoide inespecífica y no se detecta diferenciación entre zona pericelular e intercelular²⁵⁸. Se han descrito ocasionalmente células con transformación rabdoide²⁶². Se han descrito otros casos con características ultraestructurales peculiares, por ejemplo, con rasgos de diferenciación de vaina nerviosa y sin ningún rasgo condroblástico (gran cantidad de citolisosomas de aspecto multivesiculado y presencia focal de lámina externa)²⁷²; o con inclusiones laminares en el RER²⁷³, o con características ultraestructurales similares a las de la grasa parda²⁷⁴. En las áreas celulares, las células se agrupan sin dejar apenas matriz entre ellas. En estas zonas, las células presentan menor cantidad de RER y están rellenas de mitocondrias. Tienen contornos más lisos y no presentan uniones intercelulares. En los casos con zonas rabdoideas o epitelioides, las células se encuentran separadas, en lugar de en trabéculas, son más redondas y presentan más citoplasma, con abundantes mitocondrias y haces de filamentos intermedios. El núcleo es excéntrico y hendido.

La heterogeneidad de imágenes ultraestructurales descritas en la literatura no identifica ninguna de ellas como constante y por tanto diagnóstica.

Teorías histogenéticas

Cuando se describió por primera vez esta entidad, se admitía un origen condral del condrosarcoma mixoide extraesquelético basándose en tres argumentos fundamentales: a) se detecta histológicamente formación focal de cartílago, b) las células pueden ser S100 positivas y c) muchos estudios ultraestructurales describen células similares a condrocitos primitivos^{260, 275, 276}. Sin embargo la diferenciación cartilaginosa se detecta sólo en el 10% de los casos y aparece en otros tumores como metaplásica, la proteína S100 no aparece en todos los tumores y no es específica del cartílago, y la diferenciación condroblástica ultraestructural en la mayor parte de los casos sólo se cita sin ilustración y por otra parte, como se señala a continuación, no existen rasgos totalmente definitivos que permitan distinguir una célula condral, individual e independiente de su matriz característica de otras células mesenquimales. De hecho los estudios más detallados de la diferenciación condral describen el condrocito fetal como una célula mesenquimal ovoidea que tiene como único dato característico pequeñas prolongaciones para su unión con el colágeno de la matriz cartilaginosa normal.

La ultraestructura de los casos incluidos en esta serie es semejante al resto de tumores descritos en la literatura, en ellos se muestran trabéculas de células poligonales con prolongaciones dendríticas, a veces uniones inespecíficas y un citoplasma rico en RER a veces con túbulos organizados en su interior. Este tipo de células con frecuencia aparecía alrededor de los vasos y también alejada de los mismos.

Los túbulos ordenados en el interior del retículo endoplásmico rugoso son frecuentes en el condrosarcoma mixoide y se han señalado como un importante dato diagnóstico de condrosarcoma mixoide aunque han sido descritos en gran variedad de tumores, entre ellos melanomas, paracordomas, cordomas²⁷⁷, osteosarcomas,

condrosarcomas mixoides esqueléticos y rhabdomyosarcomas²⁵; nosotros los hemos encontrado incluso en los fibroblastos de una fibromatosis convencional (hallazgos no publicados).

Los dos casos de condrosarcoma extraesquelético mixoide se ajustan a las descripciones de la literatura, sin embargo no se observan rasgos de diferenciación condral. Uno de los casos sólo presentaba CPIs. Estos hallazgos ultraestructurales son completamente superponibles a los observados en los dos casos de paracordomas estudiados, como veremos más adelante.

En resumen, del estudio de nuestros casos, concluimos que el condrosarcoma mixoide extraesquelético y el condrosarcoma esquelético con degeneración mixoide son entidades diferentes con distintas características ultraestructurales, mientras que los paracordomas presentan características ultraestructurales superponibles con los condrosarcomas mixoides por lo que podría tratarse de la misma entidad, aunque en la literatura no existe un acuerdo sobre este punto, sino que más bien se tiende a considerar al paracordoma una entidad de origen mioepitelial por su positividad para proteína S100 y marcadores epiteliales. Sin embargo, como veremos, en nuestros casos el patrón inmunohistoquímico se ajustaba a la literatura, mientras que ultraestructuralmente no se observaron signos de diferenciación mioepitelial. Además, a diferencia del condrosarcoma esquelético y el condroma, que muestran claros rasgos ultraestructurales de diferenciación condral, éstos no se han observado ni en el condrosarcoma mixoide extraesquelético ni en el paracordoma, por lo que no podemos llegar a ninguna conclusión acerca de su naturaleza. Sólo se han encontrado células indeterminadas (CPI). Sí que nos ha llamado la atención la superposición de la imagen ultraestructural entre los casos en los que se observan CPI formando trabéculas que, ocasionalmente, presentaban cisternas de RER rellenas de microtúbulos, con las que observamos en los

mixofibrosarcomas y algunos rhabdomyosarcomas, además de la similitud entre estas células y su disposición, con los prelipoblastos.

Relación entre distintas variedades de condrosarcomas

En la literatura se admite que a pesar de la gran similitud histológica entre el condrosarcoma mixoide extraesquelético y el esquelético, se trata de dos entidades diferentes. En una serie de 40 casos (20 esqueléticos y 20 de tejidos blandos)²⁵⁸ y en otra serie de 11 (10 extraesqueléticos y 1 esquelético)²⁶⁴ se observan diferencias tanto clínicas (edad media, localización y tamaño) como ultraestructurales: los condrosarcomas extraesqueléticos presentan abundantes microtúbulos y mitocondrias citoplasmáticas mientras que los esqueléticos se caracterizan por la pobreza de organelas; como citogenéticas: la traslocación t(9;22) es patognomónica del condrosarcoma extraesquelético y no se ha observado en ningún caso óseo; en los casos de condrosarcoma mixoide extraesquelético el grado histológico es un factor pronóstico, mientras que en los esqueléticos no se ha observado esta relación.

Algunos autores consideran que el condrosarcoma mesenquimal es la forma más indiferenciada de tejido condroblástico, tanto por las características ultraestructurales de las células (semejantes a células cartilaginosas primitivas) como por la positividad para S100. En cualquier caso, es un tumor emparentado con el condrosarcoma extraesquelético mixoide puesto que se han descrito casos de éste que han metastatizado como mesenquimal^{23, 278}, aunque existen descripciones ultraestructurales comparativas en las que presentan características completamente diferentes²⁷¹.

Las series más largas que estudian ultraestructuralmente los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos concluyen que la técnica es útil en el diagnóstico y, la mayoría coinciden en que sugiere diferenciación condroblástica: presencia de

prolongaciones filopódicas, abundante RER dilatado, mitocondrias y aparato de Golgi, presencia de depósitos de glucógeno y de gotas de grasa.

C) PARACORDOMAS

Definición

El paracordoma es un tumor benigno de tejidos blandos constituida por células frecuentemente vacuoladas de histogénesis incierta que se encuentran en el seno de una matriz mixoide o hialina eosinófila que simula la notocorda

. Se han publicado en la literatura menos de 50 casos, e incluso algunos de ellos son de diagnóstico dudoso, puesto que algunos corresponden a tumores fibromixoides osificantes y otros a ependimomas mixopapilares de partes blandas. Esta entidad fue descrita en 1951 por Laskowski que lo denominó cordoma periférico sobre la hipótesis de que procedía de células sinoviales especializadas. Su discípula Dabska²⁷⁹ acuñó el término paracordoma en la primera y más larga serie publicada hasta el momento, en la que sugería la similitud de este tumor con el cordoma clásico. Otros autores en casos publicados posteriormente apoyaron esta teoría del posible origen en restos ectópicos de notocorda⁶³, mientras que otros autores postularon un origen en células de Schwann y otros un origen similar al del sarcoma sinovial²⁸⁰. Se ha descrito el caso de un niño con múltiples nódulos cordomoides, con histología similar a la del cordoma, pero en tejido celular subcutáneo y esquelético, que desaparecieron tras radioterapia. Estos nódulos en los que el autor postula que los fibroblastos adquieren características histológicas de células fisalíferas (más que restos ectópicos de notocorda) podrían ser el origen del paracordoma.

Características macro- y microscópicas

Morfológicamente presentan un aspecto parecido a los tumores mixtos de glándula salival que a veces se localizan en tejido celular subcutáneo e incluso en tejidos blandos profundos. Sin embargo no existen datos concluyentes de diferenciación mioepitelial mediante IHQ o US. Son tumores lobulados generalmente menores de 5 cm. Histológicamente, los lóbulos están separados por bandas fibrosas. La mayoría de las células tienen núcleos vesiculares o picnóticos, con citoplasma abundante, muy frecuentemente vacuolado. Se disponen en hileras o grupos en el seno de una abundante matriz mixoide o hialina que puede parecer condroide. A veces se ven nidos compactos de células fusiformes. Las células muestran límites definidos. El aspecto general es similar al de los cordomas. Las técnicas histoquímicas demuestran que la matriz está constituida por ácido hialurónico.

Características inmunohistoquímicas

Los casos estudiados con IHQ contienen células S100 + y en algunos de ellos, las células son también queratina y EMA +. La positividad simultánea para S100 y marcadores epiteliales es característica del cordoma, lo que hace pensar que ambos tumores se encuentran relacionados. Sin embargo, el paracordoma se localiza en zonas diferentes y los tipos de citoqueratinas son diferentes para ambos.

Características citogenéticas

Los casos estudiados presentan trisomías 15 o monosomías 1, 16 y 17. Se ha descrito un caso con análisis citogenético en el que, a pesar de que muestra alteraciones clonales del tumor, tanto numéricas como estructurales (del(2)t(2;4); del(3q); pérdida de cromosomas 9, 10, 20, 22; o pérdida del cromosoma 17), no se observa la

traslocación cromosómica patognomónica del condrosarcoma mixoide extraesquelético²⁸¹.

Características ultraestructurales

Las primeras descripciones ultraestructurales de la entidad sugerían una diferenciación sinovial^{282, 283}, basándose en rasgos inespecíficos como la presencia de pseudoacinos, prolongaciones citoplasmáticas de tipo filopodia largas y con interdigitaciones, desmosomas, lámina basal parcial, poco RE y numerosos filamentos intermedios de 80-100Å, hallazgos que también se observaban en sarcomas sinoviales monofásicos y sarcomas epitelioides. Aunque no todos los autores están de acuerdo (Erlandson 1994)²⁸⁴, en general existe la opinión de que se trata de un tumor diferente del condrosarcoma mixoide extraesquelético, basándose en que es positivo para queratinas, EMA²⁸⁵, presenta células fisalíferas y uniones inespecíficas (Povisil 1985)^{286, 287} (sólo ocasionalmente se muestran imágenes tipo desmosoma²⁸⁸) lo que los asemeja a los cordomas^{287, 288, 289, 290, 291}. Sin embargo esta opinión no es universal y algunos autores lo consideran como una variante de condrosarcoma mixoide aunque admiten algún rasgo de diferenciación epitelial (Erlandson, 1994)^{292, 293}, no encuentran diferencia sustancial entre ambos tipos de tumores. Un autor ha sugerido un origen neuroepitelial²⁹⁴ y algunos autores han intentado relacionarlos con los tumores mixtos de partes blandas, pero no existen evidencias de diferenciación mioepitelial.

En nuestros casos la imagen es totalmente superponible entre los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos y los paracordomas y sólo se evidencian CPIs y miofibroblastos inmaduros, mostrando ambos casos túbulos organizados en las cisternas del RER.

En resumen nosotros encontramos en este tipo de tumores un predominio de CPI junto con elementos intermedios en la diferenciación hacia miofibroblastos. En este sentido la imagen ultraestructural es similar a la del mixofibrosarcoma pero la diferencia fundamental es que la proliferación las células de tipo indeterminado es mucho más intensa. Parece por tanto que estos tumores procederían de este tipo celular que conservaría cierta capacidad de diferenciación fibroblástica y tal vez condroblástica y osteoblástica.

Por otra parte el patrón ultraestructural de grandes áreas de trabéculas formadas por CPI con túbulos ordenados en el interior de cisternas de RER dilatado es repetitivo y constituye un importante dato diagnóstico, aunque no permite diferenciar el CSME del paracordoma, que en nuestros casos presentan características ultraestructurales superponibles, lo que sugiere una estrecha relación entre las dos entidades.

Durante muchos años se ha discutido acerca de la relación entre cordomas, condrosarcomas mixoides y sarcomas cordoides. Muchos autores han concluido que el sarcoma cordoide y el condrosarcoma mixoide son la misma entidad²⁹⁵, pero queda por determinar en qué grupo se incluye el paracordoma o si se trata de una neoplasia completamente diferente. En una serie comparativa²⁹³ entre sarcomas cordoides, condrosarcomas mixoides y cordomas, la ultraestructura muestra muy pocas diferencias entre las tres entidades: los sarcomas cordoides muestran inclusiones de matriz intercelular en las células vacuoladas y uniones maculares entre las células en trabéculas, los cordomas muestran el mismo aspecto ultraestructural, con la diferencia de que sus células vacuoladas (fisalíferas), presentan además gránulos intracitoplasmáticos de glucógeno rodeados de membrana y en los casos de

condrosarcomas mixoides extraesqueléticos, las células presentan ocasionalmente bordes espiculados y no se han observado uniones intercelulares entre ellas. En cuanto a los hallazgos inmunohistoquímicos, los sarcomas cordoides son ocasionalmente EMA +; los cordomas son queratina y EMA + y los condrosarcomas son constantemente negativos. Las tres entidades son positivas para S100 y Leu-7. En otra serie comparativa entre estas entidades²⁵⁹, las similitudes ultraestructurales entre sarcoma cordoide, cordoma y cordoma periférico (paracordoma) son aún mayores, se observan pseudoinclusiones de sustancia intercelular en las células vacuoladas en los tres tumores, pero en el cordoma y el paracordoma se observan además vacuolas de glucógeno tal y como se describe en la serie anterior. En esta serie, paracordoma y condrosarcoma mixoide extraesquelético no muestran diferencias ultraestructurales relevantes. Y en cuanto a los cordomas, como desarrollaremos a continuación, la única diferencia ultraestructural observada, es la presencia de células fisalíferas. Las diferencias entre estas entidades son fundamentalmente topográficas, inmunohistoquímicas (sobre todo entre el cordoma y el condrosarcoma mixoide extraesquelético) y citogenéticas (ya que el condrosarcoma presenta una alteración característica).

7. CORDOMAS

Definición

El cordoma es el único tumor originado en restos de la notocorda. No se han descrito tumores benignos de este origen, sin embargo sí se han encontrado lo que aparentemente parecen restos ectópicos de notocorda que se denominan ecordosis fisalífera²⁹⁶. Se han descrito nódulos similares múltiples fuera de la línea media²⁸².

Características clínicas

Son más frecuentes en varones. Son extraordinarios por debajo de los 30 años, aunque se han descrito casos en niños y jóvenes (nuestra serie incluye un caso en una niña de 11 años). Se suelen localizar en la base del cráneo y en la columna cervical²⁹⁷. Algunos son de comportamiento biológico muy agresivo²⁹⁸. Alrededor de la mitad afectan al sacro y aproximadamente el 37% al clivus.

Características macroscópicas

Son tumores lobulados, grisáceos y blandos de aspecto mixoide.

Características microscópicas

El aspecto lobulado es el rasgo más característico. Los lóbulos están separados por tractos fibrosos. Dentro de los lóbulos se encuentran pequeñas células redondeadas con/sin pleomorfismo citológico, dispuestas en cordones en el seno de un estroma mixoide. El aspecto citológico puede variar entre células muy epitelioides a células fusiformes. Las células se vacuolizan y aumentan de tamaño adquiriendo un aspecto de pompas de jabón (células fisalíferas).

En 1973²⁹⁹ se describió una variedad de cordoma, con estroma condral en lugar de mixoide, el cordoma condroide que en la mayor parte de las series parece estar asociado a mejor pronóstico. La mayor parte de los autores encuentran características inmunohistoquímicas y ultraestructurales comunes que le relacionan con el cordoma clásico, pero existen autores que ponen en duda que se trate de una variedad de cordoma y lo relacionan con tumores como el condrosarcoma^{300, 301, 302, 303}.

Se han descrito también cordomas desdiferenciados que se definen como tumores con áreas histológicamente idénticas a las del cordoma convencional, así como un componente fusocelular maligno de alto grado. En un estudio que incluía 4 cordomas desdiferenciados y 12 convencionales, las características inmunohistoquímicas de los primeros revelaban transición gradual de la tinción de EMA, citoqueratinas y S100 desde las zonas de cordoma convencional a las zonas fusocelulares. Los autores de este estudio sugerían que los cordomas desdiferenciados contienen células multipotenciales que pueden diferenciarse hacia epitelio o mesénquima³⁰⁴.

El diagnóstico diferencial incluye fundamentalmente los condrosarcomas mixoides y los ependimomas mixopapilares³⁰⁵, además de las metástasis de carcinomas mucosecretores⁶³ de las que también les distinguen las características bioquímicas de su matriz³⁰⁶.

Características inmunohistoquímicas

Los cordomas se caracterizan inmunohistoquímicamente porque son positivos para S100 y además presentan marcadores epiteliales (EMA y queratinas)³⁰⁷. Algunos estudios inmunohistoquímicos³⁰⁸ sugieren que los cordomas condroides son, en realidad condrosarcomas porque no son positivos para marcadores epiteliales. Pero este aspecto es debatido por otros^{309, 310}, que además observan transición de la tinción entre las

zonas cordoides clásicas y las condroides^{300, 311, 312}. También se ha estudiado la expresión de estos marcadores en los cordomas desdiferenciados tal y como se ha referido anteriormente³⁰⁴. Otros estudios comparan las características inmunohistoquímicas entre cordomas y condrosarcomas, encontrando diferentes patrones inmunofenotípicos entre ambos³¹³. Otros investigadores estudian el papel de la proteína tau y la expresión de tubulina en el tejido condral y las neoplasias condroides, proponiendo su utilización para el diagnóstico diferencial entre condrosarcomas y cordomas³¹⁴.

Características citogenéticas

Existen varios estudios^{315, 316, 317} sobre las características citogenéticas de los cordomas. Los hallazgos más constantes son: pérdidas de los brazos 3p y 1p, ganancias de 7q, 20, 5q y 12q. También se han observado alteraciones cromosómicas clonales: der (1)t(1;22), del (4);+del (5);+del (6), +7del (9), del (10), +der(20)t(10;20), +21. Estos hallazgos sugieren que los genes supresores tumorales o las alteraciones en los genes reparadores (1p31 y 3p14) y los oncogenes (7q36) están implicados.

Se han descrito casos familiares, en los que se ha observado un locus del cordoma familiar en 7q33, pero no se ha completado el mapa para la localización concreta del gen³¹⁸. Otros casos comparten con los esporádicos el locus supresor tumoral 1p36³¹⁹. Como se ha referido previamente los cordomas presentan MIN (inestabilidad de microsatélites) y LOH (pérdida de heterocigosidad), en algunos casos en el gen supresor tumoral del retinoblastoma³²⁰.

Características ultraestructurales

Las características ultraestructurales descritas en la literatura más importantes en los cordomas son:⁶³

1.- presentan vacuolas de distintos tamaños que pueden estar vacías o contener partículas de glucógeno, fragmentos amorfos de mucina, o restos de organelas degradadas – las vacuolas alcanzan el máximo tamaño en las células fisalíferas.

2.- grupos de mitocondrias parcial o completamente rodeadas por cisternas de RER y complejos mitocondria-RER

3.- grandes depósitos de partículas de glucógeno

4.- luces intracitoplasmáticas con escasas microvellosidades y focos de microvellosidades periféricas e intercelulares

5.- desmosomas asociados a filamentos de queratina, grupos de filamentos intermedios (citoqueratina y vimentina) y ocasionales tonofibrillas

6.- escasos restos de membrana basal.

Ueda y cols. describen la presencia de microtúbulos ordenados paralelamente en cisternas de RER^{287, 307, 311, 312, 313, 321, 322, 323, 324, 325}. en todos estos estudios se observa que los cordomas muestran características ultraestructurales epiteliales (complejos de unión, microvellosidades, lámina basal) que los diferencian de los condrosarcomas mixoides^{300, 312}.

Muchos autores han intentado filiar el origen y la función de las grandes vacuolas de las células fisalíferas, algunos estudios concluyen que estas vacuolas son el resultado de la ruptura y utilización de los gránulos de glucógeno (que se observan rodeados de membrana) para la síntesis de sulfoglicanos pero que éstos no se sintetizan ni se almacenan en ellas³²⁶.

Otros autores las describen como vacuolas extra e intracelulares que contienen un material granular fino de mucopolisacáridos ácidos probablemente de tipo condroitín. Sugieren un origen mesodérmico (a pesar de que observan características epiteliales) por los hallazgos ultraestructurales de densidades subplasmolemales y vesículas pinocíticas³²¹.

En otro estudio se observa una progresión en las células neoplásicas con cantidades variables de glucógeno, al principio no se observa glucógeno y después se van llenando progresivamente hasta que se vacían dejando “agujeros” con lo que se constituye la imagen descrita en las células fisalíferas; con ello concluyen que todas las células son de la misma naturaleza^{322, 323, 324}.

En nuestros casos, a diferencia de la literatura revisada, no se observan características epiteliales ultraestructurales, el patrón ultraestructural es el mismo que el de los paracordomas y el de los condrosarcomas mixoides como ya se ha descrito al hablar de estos tumores. Ocasionalmente se observan células vacuoladas con las características ultraestructurales descritas para las células fisalíferas, pero éstas no aparecen en todos los casos, probablemente por la selección del muestreo. En los casos de paracordomas y condrosarcomas mixoides no se observaron células fisalíferas. La mayoría de los autores concluyen que estas células muestran un cambio degenerativo, pero que en realidad son las mismas células que las que componen el resto del tumor.

Teorías histogenéticas

Clásicamente se admite que el tejido de origen del cordoma es la notocorda residual que persiste en el núcleo pulposo de los discos intervertebrales. Sin embargo, resulta llamativo que un tejido vestigial destinado a atrofiarse como la notocorda, conserve el potencial proliferativo suficiente como para producir neoplasias. En este

sentido, se han realizado estudios que comparan las características citológicas evolutivas de la notocorda con las características histológicas de los cordomas intentando encontrar una relación entre ambos³²⁷. En uno de ellos se analizan las características ultraestructurales del desarrollo embriológico de la notocorda en embriones de pollo, desde las primeras 24 horas de vida hasta a término. Se observa que en la mayoría de las células de la notocorda coexisten signos de daño metabólico y degeneración progresiva (similares a los observados en las células fisalíferas) con signos secretores y de actividad mitótica (de las que deriva su potencial proliferativo). La degeneración vacuolar es atribuible a la segregación metabólica progresiva provocada por la ausencia de vasos en la vaina pericondral.

Otros estudios histológicos y ultraestructurales³²⁸ utilizan para la comparación restos de notocorda humana y encuentran que tanto histológica como ultraestructuralmente son similares por lo que se deduce la relación entre dicho tejido y su contrapartida neoplásica (cordoma). Estos autores observan un patrón difuso en 4 casos de cordoma que se observa en la notocorda, por lo que podría atribuirse a su naturaleza neoplásica.

En los tejidos periféricos alejados de la línea media también se ha descrito una entidad con las características histológicas de la notocorda, denominada ecordosis fisalífera. Algunos autores³²⁹ estudian sus características ultraestructurales comparadas con las del cordoma, observando en la ecordosis: inclusiones nucleares, gránulos de centro denso rodeados de membrana y densidades lineales subplasmolemales; y en los cordomas: gran desarrollo del aparato de Golgi y del RER, repliegues subplasmolemales, irregularidades nucleares y abundante matriz extracelular. Atribuyen el mismo origen a las dos entidades basándose en que ambas muestran rasgos ultraestructurales epiteliales y mesenquimales.

La ecordosis fisalífera en las vértebras³³⁰ está constituida por notocorda ectópica asociada a cartílago hialino. Los autores proponen que estos restos constituyen los orígenes de los cordomas vertebrales y que pueden también ser el origen del cartílago hialino.

CONCLUSIONES:

En nuestra serie no se han observado diferencias ultraestructurales entre cordomas, condrosarcomas mixoides y paracordomas, a excepción de la presencia de células fisalíferas en los primeros. Este hecho no descarta que se traten del mismo tumor, puesto que también se han estudiado cordomas en los que no se han encontrado células fisalíferas y porque la mayor parte de la literatura apoya que se trate de la misma célula neoplásica que la estrellada y la poligonal del cordoma pero con cambios degenerativos (vacuolas). Estas células (estrellada y poligonal) presentan el mismo aspecto ultraestructural que las observadas en paracordomas y condrosarcomas mixoides.

Tampoco el hecho de que el cordoma se origine a partir de restos de notocorda descarta que las tres neoplasias tengan un origen común, ya que existe una entidad que podría constituir notocorda ectópica fuera de la línea media: la ecordosis fisalífera.

8. TUMORES NEURALES³³¹

Sólo discutiremos brevemente en este apartado las características de los tumores neurales que se incluyen en la serie, comparando nuestros resultados con la literatura al respecto. Nos extenderemos en la discusión de las características ultraestructurales y las diferencias entre ellos a este respecto.

Existen distintos trabajos que describen tanto las características ultraestructurales de las células de la vaina del nervio (de Schwan, perineural, fibroblástica y células primitivas)³³², como la de los tumores que derivan de estas células^{333, 334}

A) SCHWANOMAS

Definición

Este tumor benigno, normalmente encapsulado, no melanótico y de vaina de nervio está constituido en su práctica totalidad por células con el inmunfenotipo y los rasgos ultraestructurales de las células de Schwan. También se denomina neurilemoma y neurinoma.

Consideraciones generales

Por varias razones, el schwanoma es el TVNP prototípico. En términos ultraestructurales e inmunohistoquímicos es el mejor definido, con células que presentan los rasgos de las células de Schwann diferenciadas. En el espectro general de los TVNP, los schwanomas tienen una capacidad limitada de sufrir una diferenciación mesenquimal divergente. La valoración de la variabilidad morfológica y del comportamiento clínico del schwanoma y sus variantes es básica para entender el resto de los TVNP, por lo que nos extenderemos algo más en su discusión.

El espectro clínico y morfológico de los schwannomas es muy amplio. En nuestro estudio hemos incluido 2 casos de schwannoma de tipo convencional porque presentaban zonas de aspecto mixoide (ver criterios de inclusión). Por el diseño del estudio (retrospectivo) no se encontraron más casos de schwannoma con estudio ultraestructural (ya que su diagnóstico histológico es sencillo sin técnicas complementarias). Se incluyó un caso de schwannoma celular con estudio ultraestructural de las zonas menos celulares que presentaban aspecto mixoide, con un diagnóstico primitivo de schwannoma maligno.

Características clínicas

Los schwannomas se dan en gente de cualquier edad, con un pico de incidencia entre la tercera y la sexta décadas. No se ha observado ninguna predilección por sexo, aunque las mujeres se afectan el doble por schwannomas de SNC, mientras que los casos inducidos por radiación se suelen producir en varones.

Las localizaciones más típicas son la cabeza y el cuello y las superficies flexoras de las extremidades, aunque se han descrito en otras localizaciones más infrecuentes, como el cérvix uterino³³⁵ o el tiroides³³⁶. De los tumores que afectan a nervios de tamaño considerable, se afectan sobre todo las raíces sensitivas. A excepción de en el contexto de la NF2, los schwannomas suelen ser solitarios.

Entre nuestros casos las localizaciones son típicas (pared torácica, escapular) para los convencionales. El caso celular es intratorácico (extrapleurar). Sin recidivas conocidas tras su extirpación y cuya presentación fue efecto masa.

En cuanto a su localización se pueden dividir en intracraneales, intraespinales, periféricos y viscerales.

Características macroscópicas

La mayoría son nodulares de superficie lisa y miden menos de 10 cm. La mayoría afectan a pequeños nervios. La cápsula fibrocolagenosa evidente en la mayoría de los casos, ya sea gruesa, fina o discontinua, deriva del perineuro y del tejido epineural. Los tumores que se originan en las vísceras o el sistema nervioso central o en las mucosas no suelen tener cápsula. La superficie de corte suele ser lisa, lobulada y de color pardo o amarillento por el depósito de lípidos. Entre los cambios degenerativos pueden aparecer hemorragias, depósito de lípidos o quistificación.

Características microscópicas

Un rasgo frecuente de los schwannomas muestreados de forma adecuada es una cápsula fibrosa bien formada. Si los cortes histológicos están bien orientados, en el seno de esta cápsula se observa que contiene el nervio de origen desplazado .

Los schwannomas convencionales están constituidos por células de Schwan dispuestas en dos patrones característicos, denominados Antoni A y Antoni B . La proporción entre ambos varía. La interfase entre ellos puede ser gradual o brusca y se pone de relieve por las diferencias en las tinciones histoquímicas, la mayor cantidad de colágeno en las zonas de Antoni A y de mucopolisacáridos en las zonas de Antoni B.

El patrón Antoni A predomina en los tumores del canal espinal y en los schwannomas celulares. Consiste en células alargadas, en grupos compactos, con núcleos romos, fusiformes, con cromatismo variable, amplio citoplasma eosinófilo y membrana celular indistinguible. Los núcleos suelen ser mayores que los de los neurofibromas.

Las zonas de Antoni B consisten en una red celular laxa con prolongaciones multipolares. Su consistencia laxa puede dar lugar a formación de microquistes. Otro

rasgo característico es el depósito de hemosiderina en torno a los vasos, que típicamente presentan paredes gruesas e hialinizadas.

La formación de mucina extracelular puede ser muy llamativa (aunque es un rasgo más característico de los neurofibromas que de los schwannomas). Hay algunos casos con tan mucina que presentan un aspecto mixoide y entran en el diagnóstico diferencial de otros tumores mixoides de partes blandas. Esta es una de las razones de que se incluyan en este estudio.

Características inmunohistoquímicas

Presentan un inmunofenotipo característico: S-100, Leu-7, positivos. Sólo se observa positividad para CD34 en las zonas de Antoni B cerca de la cápsula (endoneuro). El colágeno IV tiñe la membrana basal y la laminina presenta el mismo patrón que la reticulina.

Ninguno de nuestros casos precisó estudio inmunohistoquímico para su diagnóstico.

Es interesante conocer la distribución de los marcadores inmunohistoquímicos en los distintos compartimentos del nervio periférico, distribución que se refleja en los marcadores que tiñen los distintos tumores derivados de nervio periférico:

	S100	EMA	CD34
Perineuro	-	+	-
Endoneuro	-	-	+
C. de Schwan	+	-	-

Además de estas características inmunohistoquímicas que se reflejan en los marcadores de las neoplasias, hay que tener en cuenta al interpretar los hallazgos

ultraestructurales, que el perineuro deriva de fibroblastos tal y como demuestran estudios en cultivos celulares³³⁷.

Características citogenéticas

Se ha observado que hasta un 20-30% de los tumores benignos de vaina tienen un contenido anormal de DNA³³⁸.

Características ultraestructurales

Aunque no suele ser necesario para el diagnóstico, estos tumores presentan unas características ultraestructurales constantes y diagnósticas (tal y como se observa en nuestros casos). La imagen ultraestructural descrita en la literatura coincide con la observada en los casos estudiados en este trabajo y que hemos descrito detalladamente en los resultados.

Las características ultraestructurales que definen la diferenciación de vaina de nervio periférico son:

-Célula de Schwan: Células con largos procesos, sin vesículas pinocitósicas, casi rellenos por filamentos intermedios y rodeadas por lámina externa continua. Estas prolongaciones rodean axones mielinizados o no y, a veces, fibras de colágeno (mesoaxones y mesocolágenos).

-Célula perineurales: Células con prolongaciones bipolares largas y finas y signos de diferenciación fibroblástica.

B) NEUROFIBROMAS³³¹

Definición

Los neurofibromas son tumores benignos de la vaina del nervio constituidos por una mezcla variable de células fibroblásticas, perineurales y de Schwan, así como de células con rasgos intermedios entre éstas. Además suelen quedar fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas dispersas.

Consideraciones generales

Todavía no queda claro si se trata de una neoplasia o un proceso hiperplásico. El desarrollo de una miríada de lesiones en los pacientes con neurofibromatosis tipo 1 (NF1) así como su heterogeneidad citológica, inmunohistoquímica y ultraestructural apoya el concepto de que se trata de una hiperplasia, mientras que la transición imperceptible entre los neurofibromas y los TMVNP sugieren que se trata de neoplasias. Las células de Schwan de los neurofibromas se diferencian de las normales por su capacidad de infiltrar la membrana basal e inducir angiogénesis. Por otro lado, las células de Schwan del neurofibroma responden de forma habitual proliferando cuando se exponen a los mitógenos celulares y factores de crecimiento específicos de células de Schwan que se encuentran en el tejido neurofibromatoso. Estos hallazgos y el hecho de que las células de Schwann derivadas de neurofibroma no producen progresión tumoral al inyectarlas en ratones³³⁹, apoyan el concepto de que es el ambiente fisiológico de los neurofibromas el que estimula la proliferación de las células de vaina nerviosa y puede que el desarrollo de subpoblaciones propensas a la transformación neoplásica. Los datos más recientes basados en estudios de inactivación del cromosoma X sugieren que los neurofibromas son lesiones monoclonales. Hasta donde se conoce actualmente, todos los pacientes NF1 albergan una mutación no funcionante en el gen NF1 (mutación de línea germinal) en todas las células del

organismo y se asume que los neurofibromas se originan como resultado de una segunda mutación, somática. Aunque todavía no se ha demostrado, los neurofibromas que no se asocian a NF1 se deben probablemente a alteraciones en el gen NF1. Posteriormente, la transformación ocasional de neurofibroma en TMVNP parece que implica la pérdida o mutación de uno o más genes supresores tumorales.

Los estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales demuestran que los neurofibromas están constituidos por células de Schwan, células de tipo perineural, fibroblastos y células con rasgos intermedios entre células perineurales y el resto. Ultraestructuralmente, se observa que células de Schwan típicas y bien diferenciadas predominan en la mayoría de los neurofibromas. El grado en que representen células de Schwan normales residuales es indeterminado. Las células de tipo perineural se definen como células con las características ultraestructurales de las células perineurales normales pero sin su inmunofenotipo (los neurofibromas suelen ser EMA negativos). Estas células están presentes prácticamente en todos los tumores por lo que representan un importante marcador de este tumor.

En nuestros dos casos, la célula predominante en el estudio ultraestructural fue el fibroblasto con rasgos perineurales (prolongaciones bipolares largas y finas).

Características macroscópicas y clinicopatológicas

Como hemos tratado, pueden darse aislados o asociados a NF1, son muy infrecuentes en la NF2. Su aspecto clínico y macroscópico depende de su forma de infiltración y su localización, por lo que se pueden dividir en tres tipos: neurofibroma cutáneo localizado (el más frecuente); neurofibroma cutáneo difuso (10% asociado a NF1, no suele malignizar); neurofibroma intraneural localizado (el segundo en frecuencia); neurofibroma plexiforme (casi 100% asociado a NF1 y con probabilidad de

malignizar); neurofibroma masivo de partes blandas (la forma menos frecuente, restringida a pacientes con NF1).

Los dos casos incluidos en nuestro estudio eran neurofibromas cutáneos localizados y no estaban asociados a NF1. Los neurofibromas pueden presentar un aspecto macroscópico mixoide que se traduce a nivel ultraestructural por una matriz laxa inespecífica, por esta razón se incluyeron estos casos en el estudio.

Características microscópicas

Se trata de tumores hipocelulares constituidos por células muy separadas con núcleos ovoides a alargados y escaso citoplasma en el seno de una matriz rica en mucopolisacáridos con cantidad variable de colágeno. Suele asociarse a mastocitos que en algunos estudios ultraestructurales³⁴⁰ se han observado en relación con células perineurales (fibroblastos perineurales): por proximidad e intercambio de vesículas pinocíticas. Estos autores sugieren dos teorías que explican esta relación, o bien los mastocitos inducen el crecimiento, o alteran el fenotipo.

En todas las formas de neurofibroma las células neoplásicas infiltran difusamente el nervio, los tejidos blandos o ambos. Se pueden observar estructuras atrapadas sin destrucción (músculo esquelético, tejido adiposo, anejos cutáneos, etc.).

A veces aparecen variaciones del patrón celular muy características de neurofibroma: corpúsculos similares a los de Wagner-Meissner o a corpúsculos pacinianos.

Características inmunohistoquímicas

Son S-100 positivos, pero menos que los schwannomas. Más de la mitad son positivos con Leu-7. Son EMA negativos (excepto en el perineuro comprimido en la

periferia). La tinción con colágeno IV es pericelular. Los axones residuales son positivos con neurofilamentos.

Características ultraestructurales

De la misma forma que ocurre con los schwannomas, no suele ser necesario el estudio ultraestructural para el diagnóstico de los neurofibromas, por eso sólo hemos encontrado en la serie de tumores de partes blandas de nuestro hospital estudiados ultraestructuralmente, 2 neurofibromas. Aún así, es una técnica muy útil en la valoración de la composición celular y las relaciones entre las células y el estroma que caracterizan estas lesiones. Independientemente del tipo de neurofibroma, se caracterizan por la variabilidad en la composición celular. La mayoría son células de Schwann (células con prolongaciones múltiples y finas que rodean fibras de colágeno: pseudomesoaxones, con filamentos intermedios y microtúbulos y rodeadas por lámina basal, sin vesículas de pinocitosis), también se observan células de tipo perineural (pueden encontrarse cerca de las fibras nerviosas mielinizadas o no mielinizadas, cerca de células de Schwann, o aisladas en la matriz mixocolagenosa; estas células presentan prolongaciones muy finas con abundantes vesículas pinocíticas y membrana basal discontinua, en algunos casos, sus prolongaciones se agrupan paralelamente formando estructuras de tipo corpúsculos táctiles), otro tipo celular son los fibroblastos (abundante RER y aparato de Golgi, vesículas pinocíticas y ausencia de lámina basal) y las células transicionales (con rasgos de células perineurales y fibroblastos o de células perineurales y células de Schwann, p.e. el fibroblasto perineural).

En nuestros casos se estudiaron las zonas más mixoides (más pobremente celulares) encontrándose como células predominantes en estas zonas, los fibroblastos perineurales (con características híbridas entre células de tipo perineural y fibroblastos)

y los fibroblastos sin rasgos que sugirieran diferenciación perineural. No se observaron células de Schwan bien diferenciadas, aunque uno de los casos presentaba alguna célula con restos de lámina basal. En ninguno de los casos se observó un patrón de trabéculas pequeñas perivasculares.

En las células perineurales de la neurofibromatosis se han descrito complejos laminares ribosómicos³⁴¹.

C) MIXOMA DE VAINA DE NERVIO (NEUROTOQUEOMA CLÁSICO) Y NEUROTOQUEOMA (NEUROTOQUEOMA CELULAR)

Definición

El mixoma de vaina de nervio periférico (neurotequeoma clásico) suele ser cutáneo, multilobulado, predominantemente mixoide, y fusocelular, con diferenciación de célula de Schwan. El neurotequeoma (neurotequeoma celular) es un tumor cutáneo, multilobulado, variablemente mixoide y moderadamente celular o hiper celular constituido por grupos de células fusiformes y epitelioides sin diferenciación de célula de Schwan ni de célula perineural.

Consideraciones generales

Por ciertas características que comparten estos dos tipos de tumor, clásicamente se pensó que se trataba del mismo tumor más o menos celular y con diferenciación de vaina de nervio periférico. Los más recientes hallazgos ultraestructurales e inmunohistoquímicos no apoyan esta teoría, los neurotequeomas no son positivos para S-100 y no poseen características ultraestructurales sugestivas de diferenciación hacia célula de Schwann, suelen estar constituidos por fibroblastos y células indiferenciadas poligonales. Nuestro caso presenta diferenciación sugestiva de músculo liso, que

también ha sido descrita en otros casos en la literatura. Otros estudios de revisión de los casos publicados³⁴² concluyen que los neurotequeomas celulares están constituidos por células mesenquimales indiferenciadas originadas en la cresta neural.

Características clínicas

El mixoma de vaina nerviosa es típico de adultos entre la tercera y la quinta década y afecta sobre todo a mujeres (2:1). Aunque es de localización variable, suelen aparecer sobre todo en la piel de las manos, espalda, brazos, cara y cuello. No se ha referido asociación con neurofibromatosis.

El neurotequeoma es también un tumor cutáneo. Suele aparecer en niños o jóvenes. La mayoría de los neurotequeomas afectan a la piel de la cara, brazos y hombros. Las lesiones faciales suelen localizarse en las regiones nasomalar, nasolabial o frontal inferior. Se han descrito casos en otras localizaciones incluida la mama.

Nuestros tres casos en este grupo se ajustan a las características epidemiológicas descritas.

Características macroscópicas

En general, los dos tumores muestran el mismo aspecto clínico: nódulos solitarios, bien delimitados, firmes y multilobulados, con matriz mixoide variable.

Características microscópicas

De forma típica, ambos son tumores multilobulados con estroma mixoide variable. No están encapsulados, sino que infiltran los haces de colágeno dérmico y se extienden con un borde romo en el tejido subcutáneo. Los lóbulos presentan una

cantidad variable de matriz mixoide en la que flotan células con prolongaciones y escaso citoplasma eosinófilo. A veces se observan cuerpos de Verocay.

El neurotequeoma (neurotequeoma celular) es más celular con menos matriz mixoide. Las células son fusiformes y epitelioides, con abundante citoplasma eosinófilo. Son frecuentes las células multinucleadas. No suelen presentar prolongaciones celulares prominentes. Suelen agruparse en remolinos. Son frecuentes los núcleos hipercromáticos y el índice mitótico puede alcanzar las 10 mitosis por 10 campos de gran aumento. En nuestro caso, además, se observaron mitosis atípicas, hallazgo no descrito en la literatura.

Los casos hipercelulares de neurotequeoma celular, que casi no presentan estroma mixoide, presentan una configuración menos lobulada, las células son predominantemente epitelioides y presentan un patrón infiltrativo claro. A pesar de su aspecto, la resección completa es el tratamiento curativo.

Características inmunohistoquímicas

Los mixomas de vaina nerviosa son positivos para S-100, mientras que los neurotequeomas no. Lo mismo ocurre con la tinción para colágeno de tipo IV y laminina. Los lóbulos del mixoma de vaina están rodeados por fibras finas EMA positivas que pueden representar el perineuro residual. El marcador de los neurotequeomas es el NK1/C3, en un estudio se observaron casos con marcadores de músculo liso³⁴³.

En nuestros 3 casos se realizó estudio inmunohistoquímico, observándose positividad para S-100 en los dos casos de mixoma de vainas y negatividad en el neurotequeoma celular.

Características ultraestructurales

Los mixomas de vaina presentan diferenciación hacia célula de Schwann rodeada completamente por lámina basal.

Por el contrario los neurotequeomas no presentan diferenciación hacia célula de Schwann ni hacia célula perineural. Los estudios ultraestructurales en la literatura observan diferenciación fibroblástica, otros estudios observan como célula predominante, una célula poligonal indiferenciada y diferenciación parcial divergente hacia célula de Schwann, célula muscular lisa, fibroblastos y miofibroblastos^{344, 345, 346}.

En nuestros casos, de los dos mixomas de vaina, uno de ellos presentó clara diferenciación hacia célula de Schwann y el otro estaba constituido por células mesenquimales primitivas en las zonas muestreadas. Tal y como se recoge en la literatura, el caso de neurotequeoma celular incluido mostró diferenciación ultraestructural divergente fibroblástica y muscular lisa. Sólo se observó patrón de distribución trabecular perivascular en el caso de mixoma con diferenciación hacia célula de Schwann clara.

D) TUMORES MALIGNOS DE VAINA DE NERVIO PERIFÉRICO (TMVNP)

Definición

Se incluye en esta categoría cualquier tumor maligno derivado de células de la vaina del nervio. Se excluyen los tumores del tejido epineural o endotelial.

Consideraciones generales

Representan aproximadamente el 5% de los tumores malignos de partes blandas. Muchos precisan de estudios especiales para diagnosticar su diferenciación, por ello se exige cumplir ciertos criterios para su diagnóstico: 1) origen en un nervio periférico; 2)

transición de un tumor benigno de nervio periférico; 3) asociación con NF1 y rasgos histológicos propios de los TMVNP; o 4) rasgos histológicos propios de los TMVNP y demostración inmunohistoquímica y/o ultraestructural de diferenciación hacia vaina de nervio periférico. En nuestro caso, el criterio que se cumple para el diagnóstico es este último.

Características clínicas y macroscópicas

La mayoría se dan en adultos entre 20 y 50 años de edad con un ligero predominio femenino. También puede observarse en la infancia y la adolescencia. Entre el 50 y el 60% se asocian a NF1. También puede asociarse a exposición laboral o terapéutica a radiación ionizante. El nervio afectado más frecuentemente es el nervio ciático, aunque puede encontrarse en localizaciones como la pleura³⁴⁷, la piel³⁴⁸, la parótida³⁴⁹ o en el pulmón^{350, 351}. Suelen ser tumores mayores de 5 cms. Es imprescindible un muestreo exhaustivo como mínimo de una sección por cada cm. de tumor para descartar la asociación con un neurofibroma previo y la presencia de elementos heterólogos.

Características microscópicas

La imagen histológica más frecuente es la de un sarcoma fusocelular heterogéneo, con mayor o menor cantidad de estroma mixoide y sin características histológicas de diferenciación que permitan el diagnóstico sin técnicas especiales. Por ello es necesario aplicar los criterios diagnósticos referidos en las consideraciones generales.

Se han descrito otras variantes más infrecuentes con aspecto histológico distinto³⁵². En algunos estudios se han descrito como factores de mal pronóstico el encontrar más de 20 mitosis por 10 campos de gran aumento, un gran tamaño y que sea necesario amputar para tratar³⁵³.

Características inmunohistoquímicas

Suelen presentar una positividad variable y parcheada para S100, también pueden presentar tinción variable para colágeno IV, laminina y Leu-7. Aunque pueden presentar diferenciación divergente³⁵⁴ con sus marcadores correspondientes (EMA o CD34, característicos de perineuro o endoneuro). Se han descrito muchos casos de diferenciación perineural^{355, 356} que se caracterizan por ser S100 negativos y EMA y CD34 positivos. Además, se ha observado diferenciación neural (inmunohistoquímica y ultraestructural) en otros tumores de estirpe incierta como el sarcoma epiteliode esclerosante (en el que se han observado fibroblastos con diferenciación perineural)³⁵⁷.

Características citogenéticas y genética molecular

Estos tumores se caracterizan por cambios cariotípicos numéricos y estructurales muy complejos, como pérdidas de material cromosómico y recombinaciones inconstantes entre caso y caso. Parece que el primer paso en el origen de estos tumores es una mutación de una o de las dos copias del gen NF1. Después se produce la pérdida de una o de las dos copias de un gen de supresión tumoral en el cromosoma 17p (probablemente el locus p53).

Características ultraestructurales

La mayoría de los casos están constituidos por células indiferenciadas lo que hace que el valor diagnóstico de la ultraestructura sea limitado. Sin embargo, en muchos casos, las células retienen mínimas características de diferenciación de vaina de nervio periférico como prolongaciones citoplasmáticas pequeñas, uniones celulares rudimentarias y pizcas de membrana basal en el espacio intercelular. Algunos casos

presentan rasgos ultraestructurales convincentes de diferenciación schwanniana y otros casos están constituidos por células con rasgos ultraestructurales perineurales o fibroblásticos. Nuestro caso está constituido mayoritariamente por fibroblastos, observándose restos de lámina basal y prolongaciones finas y largas que sugieren diferenciación de vaina de nervio.

Otras características descritas son la vacuolización intracitoplasmática que se refleja ultraestructuralmente como cisternas de RER dilatado rellenas de material granular³⁵⁸ o formaciones laminares anilladas³⁵⁹.

En general, el diagnóstico se realiza gracias a las técnicas complementarias, ya que histológicamente sólo se puede diagnosticar de sarcoma fusocelular sin rasgos de diferenciación. En cuanto a la ultraestructura, el diagnóstico viene definido por la presencia de prolongaciones celulares, uniones y lámina basal³⁶⁰.

Conclusiones

En lo que se refiere al estudio de las características ultraestructurales de los tumores de esta estirpe neural o de vaina, nuestras conclusiones no son significativas, ya que la muestra, al estar tomada del estudio rutinario en un departamento de Anatomía Patológica, no refleja la frecuencia relativa de estos tumores, sino la frecuencia con la que se requiere el estudio ultraestructural para realizar el diagnóstico.

- Una de las primeras conclusiones que extraemos es que los schwanomomas presentan una imagen ultraestructural característica y repetitiva (tanto en nuestros casos como en la literatura) y por tanto diagnóstica.

- Los neurotequeomas clásicos muestran esta misma imagen asociada a abundante matriz mixoide inespecífica sin que se observen muchas diferencias entre ellos a excepción de la cantidad de matriz³⁶¹.

- No se observa patrón perivascular trabecular de células indiferenciadas más que en dos casos. Por lo que no se pueden extraer conclusiones que nos sirvan para compararlos con otros tumores donde sí se observaba este patrón (liposarcomas, cordomas, paracordomas, condrosarcomas mixoides extraesqueléticos.)

- Los neurotequeomas celulares, tal y como se ha observado también en la literatura, no presentan rasgos de diferenciación neural evidentes, ni inmunohistoquímicos, ni ultraestructurales.

- La imagen ultraestructural observada en los neurofibromas es bastante inespecífica, excepto en los casos en los que se observan células de Schwan (no ocurre así en los incluidos en nuestra serie).

- Los tumores malignos de vaina de nervio periférico presentan rasgos ultraestructurales sugestivos de diferenciación neural. Existen varios trabajos que defienden la mayor rentabilidad de la ultraestructura respecto a la inmunohistoquímica para el diagnóstico de estos tumores, particularmente cuando la S100 es negativa³⁶², especificando que la combinación de ambas técnicas puede alcanzar un diagnóstico específico en más del 95% de los casos, que la utilización rutinaria de la microscopía electrónica en los sarcomas aumenta la precisión del diagnóstico, ayuda a establecer la frecuencia verdadera de positividad a marcadores en los distintos tipos de tumores y minimiza el número de casos inclasificables^{178, 363}.

- Los estudios que analizan los patrones de diferenciación de sarcomas fusocelulares al injertarlos en ratones observan que aunque el patrón inmunohistoquímico y ultraestructural cambie, la morfología no (por eso son necesarias las técnicas auxiliares para diagnosticarlos) y que en muchos casos la ultraestructura demuestra mejor la línea de diferenciación que puede llegar a ser bi- o tridireccional³⁶⁴. Estos hallazgos justifican los estudios inmunohistoquímicos donde se observa

diferenciación multidireccional en los casos para diagnóstico (no en injertos) y de ellos surge el concepto de las células madre pluripotenciales como origen de las distintas líneas de diferenciación mesenquimal. Además, sugieren que el microambiente juega un papel importante en la expresión de la diferenciación celular³⁶⁵. Esta hipótesis está en consonancia con nuestro hallazgo de una célula perivascular indeterminada con escasos rasgos de diferenciación que aparece en pequeñas trabéculas, mientras que las células que se observan alejadas de los vasos son, por norma general, más diferenciadas y se encuentran separadas unas de otras (por la síntesis de matriz mixoide). En cuanto a la diferenciación divergente de las células, se ha demostrado incluso que las células de la cresta neural pueden diferenciarse tanto hacia mesénquima como hacia elementos neuroectodérmicos^{366, 367, 368, 369, 370}.

9. MISCELÁNEA

En este grupo de tumores hemos observado una diferenciación predominante fibro-miofibroblástica que no ha permitido realizar un diagnóstico ultraestructural específico de entidad. En el caso del carcinoma, podemos comparar la distribución de las células epiteliales respecto de las mesenquimales, observando que las primeras se distinguen de las últimas porque se agrupan en nidos o túbulos rodeados de membrana basal y establecen uniones estrechas, mientras que las últimas tienden a encontrarse aisladas y sus uniones son primitivas o inexistentes. La matriz es inespecífica y no permite distinguir entre tumores de estirpe epitelial y mesenquimal.

Uno de los casos presenta abundantes gránulos neurosecretorios en el interior de células que por lo demás eran similares a las descritas en este trabajo como CPIs, hallazgo descrito en la literatura con anterioridad en un condrosarcoma mixoide extraesquelético³⁷¹, sin embargo este caso presentaba también células con vacuolas grasas de distintos tamaños lo que sugería diferenciación lipoblástica, algunas de ellas similares a prelipoblastos, incluso de localización perivascular, en las que también se observaron gránulos neurosecretorios. El estudio inmunohistoquímico resultó negativo para proteína S100, lo que apoya más la opción de que se tratara de un condrosarcoma mixoide extraesquelético celular, pero dado que la imagen histológica y el cuadro clínico no eran determinantes de ninguna de las dos entidades, se decidió incluir este caso en la categoría miscelánea como no tipificable. No hemos encontrado en la literatura ninguna descripción ultraestructural de un liposarcoma con gránulos neurosecretorios.

ESTUDIO HISTOGENÉTICO

De la literatura revisada y nuestros propios resultados observamos que las distintas entidades neoplásicas (sobre todo las menos diferenciadas) están constituidas ultraestructuralmente por células en distintos estadios de diferenciación, siendo las más diferenciadas las que caracterizan la entidad (en el caso de que existan, puesto que en casos como los condrosarcomas mixoides extraesqueléticos y los paracordomas, las células predominantes son indeterminadas) mientras que las menos diferenciadas son las que se parecen más entre tumores de distinta estirpe. Hemos revisado la literatura buscando modelos sobre tejido no neoplásico de procesos de diferenciación celular para comparar las células mesenquimales primitivas con las células indiferenciadas encontradas en nuestro estudio; así, hemos revisado el desarrollo embrionario del tejido conjuntivo, del tejido adiposo, el desarrollo de las vellosidades placentarias, hemos estudiado ultraestructuralmente la gelatina de Wharton de cordones umbilicales como modelo no neoplásico de tejido mixoide comparando nuestros resultados con otros estudios similares en la literatura. Además, hemos revisado las investigaciones más recientes acerca de células madre mesenquimales que se utilizan en los procesos de regeneración tisular.

MODELOS DE DIFERENCIACIÓN CELULAR EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Desarrollo general del tejido conjuntivo

Dickersin⁵⁰ utiliza como modelo comparativo el desarrollo embrionario para la identificación de células en distintos estadios madurativos que aparecen también en neoplasias mesenquimales. Realiza esta comparación con fines diagnósticos (identificación de línea de diferenciación tumoral) y refiere además la utilidad de este

modelo para dilucidar las limitaciones de la morfología ultraestructural en el diagnóstico, ya que, cuando las células son muy primitivas pueden parecer iguales morfológicamente aunque pertenezcan a distintas líneas de diferenciación. Sin embargo, si se muestrean exhaustivamente, casi todas las neoplasias presentan células en distintos estadios madurativos que permiten una identificación de alguna línea celular.

El período embrionario especialmente adecuado para esta correlación embrionario-neoplásica comienza en la semana 16 de la gestación, en este momento comienza a formarse la tercera capa germinal primario: el mesodermo, a partir del ectodermo suprayacente; este proceso se denomina gastrulación.

El ectodermo en la región de la hendidura primitiva se invagina y sus células migran ventralmente para formar el mesénquima primario entre el ectodermo y el endodermo. El proceso continúa en dirección lateral y el día 20 las células mesenquimales se agrupan en tres masas principales interconectadas: el mesodermo para-axial (somitos), el intermedio y el lateral. La morfología celular de las tres masas es idéntica, pero la determinación bioquímica de la diferenciación de línea celular, tejido y órgano probablemente ya ha tenido lugar.

Hacia el comienzo de la 4ª semana, las células epitelioides que forman las paredes ventral y medial del somita pierden su morfología epitelial, se tornan polimorfas y emigran hacia la notocorda. Estas células que en conjunto reciben el nombre de esclerotomo forman el tejido laxo denominado mesénquima o tejido conjuntivo joven. Van a rodear la médula espinal y la notocorda para formar la columna vertebral. Es decir, van a dar lugar a estructuras cartilaginosas y óseas.

El resto del somito constituye el dermomiótoma del que migrarán las células que constituyen el miótomo que darán lugar al componente muscular segmentario. El resto

de las células constituyen el dermatomo del que se originará el componente segmentario dérmico e hipodérmico (ya que la epidermis es un derivado ectodérmico).

Del mesodermo intermedio deriva el sistema urogenital y del mesodermo lateral derivan los revestimientos celómicos parietal y visceral (que serán las membranas serosas del adulto)³⁷².

En su estudio, Dickersin establece un paralelismo entre el desarrollo embrionario de estas tres capas y tres neoplasias diferentes: el miotoma y los rabdomiosarcomas embrionarios, el metanefros y el tumor de Wilms y el revestimiento celómico y los tumores fibrosos solitarios pleurales. Para ello utiliza cortes transversales de embriones en esta etapa madurativa (39 días), identificando las estructuras descritas y analizándolas ultraestructuralmente por lo que incluye una descripción ultraestructural detallada de las células mesenquimales embrionarias.

Así, las células mesenquimales primitivas son de forma irregular, se encuentran sueltas sólo con contactos focales con otras células. Las uniones intercelulares son de tamaño pequeño o intermedio y bastante frecuentes. La relación núcleo-citoplasma es muy alta, el citoplasma es escaso y las organelas que contienen son: ribosomas libres, unas pocas vesículas de pequeño tamaño, mitocondrias y cisternas de RER levemente dilatadas. Los núcleos son eucromáticos y los nucleolos suelen ser múltiples y pequeños. Estas células son pues muy parecidas morfológicamente a las CPI que observamos en nuestros casos, excepto por el hecho de que presentan frecuentes uniones intercelulares de pequeño tamaño y que no se encuentran en relación con vasos (todavía no están formados) lo que podría explicarse porque en tejidos de adulto las células primitivas residuales quedaran en esta localización.

También son parecidas las células que describe Dickersin en el miotoma, se diferencian fundamentalmente por la gran cantidad de prolongaciones celulares que

poseen y porque han adquirido algo más de citoplasma y orgánulos con una pequeña cantidad de glucógeno en muchas de ellas. Algunas células más alargadas contienen aún más citoplasma y una cantidad variable de filamentos finos y gruesos así como esbozos de bandas Z. De forma que este espectro de diferenciación celular es similar al del rabdomiosarcoma embrionario, con dos diferencias principales: la mayoría de las células de los rabdomiosarcomas embrionarios tienen más citoplasma, y además tienen núcleos irregulares con nucleolo más prominente. En nuestros casos de rabdomiosarcomas también observamos estas mismas células (ver figuras 23 a 25).

También observamos que las células subepiteliales que describe Dickersin en el revestimiento celómico son muy parecidas morfológicamente y en su forma de agruparse a las CPI encontradas en nuestros casos. Son poligonales o alargadas dispuestas aisladas o en pequeños grupos en una matriz clara. Tienen núcleos redondeados e inespecíficos con un pequeño nucleolo y muy poco citoplasma. Estas células son las que Dickersin compara con las células del tumor fibroso solitario en cuyo estudio ultraestructural describe la presencia de estas células asociadas a células con un grado intermedio de diferenciación (mayor cantidad de cisternas dilatadas de RER) y también fibroblastos desarrollados. En estos casos las células más primitivas suelen aparecer aisladas, mientras que las más diferenciadas se agrupan, al revés de lo que observamos en nuestros casos.

A pesar de que las células mesenquimales primitivas descritas en tejido embrionario son similares a las CPI observadas en nuestro estudio existen diferencias, como por ejemplo la mayor cantidad de prolongaciones celulares y la presencia de uniones intercelulares. En la descripción de rabdomiosarcomas embrionarios y tumores fibrosos solitarios no se observa ninguna distribución específica de las células respecto

a las estructuras vasculares y en el caso de los tumores fibrosos solitarios, las células que se agrupan son las más diferenciadas a diferencia de nuestros casos.

Desarrollo del tejido adiposo

En cambio, el modelo embrionario que mejor se adapta a los hallazgos observados en nuestros casos es el del tejido adiposo del que ya hemos hablado en la discusión de los tumores adipocíticos. En el tejido adiposo en desarrollo se observan células similares a las CPI también de localización perivascular y que progresivamente adquieren mayor cantidad de grasa (se diferencian) y se alejan de los vasos.

Los últimos estudios acerca de la adipogénesis en la línea de investigación de ingeniería tisular en los que se buscan fuentes de producción de adipocitos, se centran en la caracterización funcional de la célula madre mesenquimal³⁷³ aislada también en médula ósea, en tejido hepático, renal, placentario, cordón umbilical, etc. Algunos estudios ultraestructurales de tejidos en los que se intenta inducir adipogénesis identifican células similares a fibroblastos en relación con vasos³⁷⁴.

Desarrollo de las vellosidades placentarias

Ya hemos descrito en el apartado dedicado a las proliferaciones miofibroblásticas, un modelo de diferenciación celular en relación con los vasos a propósito del desarrollo de las vellosidades placentarias.

Hacia el comienzo de la 3ª semana, el trofoblasto se caracteriza por el tronco de las vellosidades primarias, formado por un núcleo de citotrofoblasto cubierto por una capa de sincitiotrofoblasto. En el curso del desarrollo posterior, las células mesodérmicas (*mesenquimales primitivas*) penetran en el núcleo de las vellosidades primarias y crecen en dirección a la decidua. La estructura resultante es el tronco de las

vellosidades secundarias. Hacia el final de la 3ª semana, las células mesodérmicas de la parte central, comienzan a diferenciarse hacia células sanguíneas y vasos de pequeño calibre, formando así el sistema capilar velloso. En esta etapa la vellosidad se llama, tronco de las vellosidades terciarias. Los capilares de la vellosidad terciaria se ponen en contacto con los capilares que se desarrollan en el mesodermo de la placa coriónica y en el pedículo de fijación. Estos vasos, a su vez, establecen contacto con el sistema circulatorio intraembrionario conectando así la placenta con el embrión³⁷².

En el desarrollo de la vascularización vellositaria varios autores encuentran un modelo de diferenciación celular entre células mesenquimales primitivas, miofibroblastos, células musculares lisas y paredes vasculares, siendo el miofibroblasto el constituyente principal del estroma vellositario y el paso intermedio en este espectro^{47, 48, 150, 151}. En este modelo el sentido de diferenciación respecto a los vasos es contrario al que nosotros observamos: centrípeto en lugar de centrífugo.

Se han conseguido aislar células madre mesenquimales de tejido placentario³⁷⁵ que a veces se utilizan para mantener las células madre aisladas de cordones umbilicales³⁷⁶.

Estudio de la gelatina de Wharton en cordones umbilicales

Las primeras descripciones de miofibroblastos en tejidos normales fueron, entre otras, las que se hicieron en la gelatina de Wharton, en la que, en los estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos, se observaba una célula estromal que contenía filamentos de actina (actina alfa de músculo liso) y que ultraestructuralmente poseía las características que se han descrito para los miofibroblastos⁴⁵, aunque otros autores no encuentran todos las características miofibroblásticas ultraestructurales y postulan que puedan tratarse de pericitos o células con diferenciación mioide

inespecífica¹⁴². En estos trabajos se describe un espectro de diferenciación fibroblástico-miofibroblástico-muscular liso e incluso pericítico en el que se incluyen distintas células especializadas con rasgos mioides variables, según algunos autores este espectro podría corresponder a isoformas celulares de una célula común primitiva con distinto grado de diferenciación según factores microambientales³⁷⁷.

Nosotros hemos observado en el estudio ultraestructural de los cordones umbilicales varios tipos celulares entre los que se encontraban células con rasgos de diferenciación miofibroblástica y células indeterminadas perivasculares (CPI) similares a las observadas en las neoplasias incluidas en la serie, por lo que, en nuestro estudio, el patrón de diferenciación celular desde los vasos en tejido mixoide no neoplásico es superponible con el observado en neoplasias. Los estudios más recientes sobre células madre mesenquimales también las han aislado en el mesénquima de cordones umbilicales y han conseguido que se diferencien a neuronas (entre otras líneas de diferenciación posibles)^{378, 379}. Sin embargo, no existe una descripción ultraestructural de la morfología de estas células que se describen como células subendoteliales de morfología similar a fibroblastos.

CÉLULAS PERIVASCULARES

En nuestra serie hemos observado una célula indeterminada, de localización perivascular que aparece en distintas entidades y que ya hemos descrito morfológicamente. Por ello, hemos revisado en la literatura las características ultraestructurales de otras células en esta misma localización ya conocidas:

*Pericitos*⁹⁸

Los pericitos son células de origen mesodérmico que rodean la mayor parte de los capilares sanguíneos, presentando estrecho contacto con los mismos, así como con las

vénulas postcapilares y las arteriolas precapilares, mientras que en las paredes de los vasos de mayor calibre lo que se encuentra son células musculares lisas.

En el estudio ultraestructural, el citoplasma del pericito contiene un aparato de Golgi yuxtannuclear, un número variable de mitocondrias, algunas cisternas de RER, ribosomas, partículas de glucógeno, lisosomas (son notables los cuerpos multivesiculares), vesículas pinocitósicas en superficie y grupos de filamentos de actina.

Los pericitos están rodeados completamente por membrana basal. En teoría, los pericitos son capaces de transformarse en células musculares lisas vasculares. Los estudios inmunohistoquímicos demuestran que estas células poseen formas de actina y tropomiosina tanto musculares como no musculares. Nemes observó que los pericitos normales expresan factor XIIIa y HLA-DR y en base a estos hallazgos de positividad para antígenos endoteliales e histiocitarios, enunció la hipótesis de que se trataba de células primitivas con capacidad para diferenciarse hacia otras células mesenquimales. En las zonas de transición a vasos de mayor calibre, se pueden encontrar células “híbridas” con rasgos ultraestructurales intermedios entre pericitos y células musculares lisas.

En las descripciones ultraestructurales de hemangiopericitomas, se describen cuatro tipos celulares:

- células pericitoides
- pericitos mioides
- células fibroblásticas
- células mesenquimales indiferenciadas

Ninguna de estas células se ajusta a las que nosotros hemos observado y descrito como CPI. Sólo en algún caso la célula mesenquimal indiferenciada podría ser similar

pero, generalmente, conserva cierta cantidad de material de membrana basal intercelular.

Sarcoma De Kaposi⁹⁸

En cualquier caso, las CPI se parecerían ultraestructuralmente más a las células fusiformes que constituyen el sarcoma de Kaposi, para estas células distintos investigadores han postulado orígenes diversos: endotelial, pericítico, fibroblástico o mesenquimal multipotencial perivascular. Estas células se distinguen de las CPI en que contienen mayor cantidad de polisomas y ocasionalmente eritrocitos fagocitados en distintos estadios de digestión intracelular. Trabajos recientes describen la capacidad de las células madre mesenquimales para albergar el virus herpes relacionado con el sarcoma de Kaposi³⁸⁰.

Células Epitelioides Perivasculares (PEC)

A pesar de que en algún artículo se describen ultraestructuralmente estas células como mesenquimales indiferenciadas³⁸¹, la mayor parte de las veces muestran en el estudio ultraestructural premelanosomas citoplasmáticos³⁸², lo que las distingue de las observadas por nosotros. No se conoce la estirpe ni el origen de las células epitelioides perivasculares, ni su posible relación con los vasos.

Células Fibrilares

Ya nos hemos referido brevemente a ellas²⁵⁰ en relación con su parecido con las que aparecen en los mixomas cardíacos, se trata de células poligonales con filamentos intermedios y pocos rasgos específicos que podrían ser similares a las CPI que nosotros

hemos observado. Estos autores las consideran células multipotenciales o vasoformativas por lo que pueden tener algún tipo de relación con las CPI observadas.

A lo largo de la discusión también hemos hablado de otras células cercanas a los vasos y con capacidad para diferenciarse, como las células lepidicas de los mixomas cardíacos que forman luces pseudovasculares.

Las células que se denominan en este estudio CPI se parecen a algunas de las descritas. Se hace referencia a células indiferenciadas, o primitivas, a veces perivasculares tanto en tejidos no neoplásicos³⁷⁷ (como por ejemplo en epiplón en adultos³⁸³), como en neoplasias³⁸⁴, en las que en muchos trabajos (a lo que ya hemos hecho referencia a lo largo de la discusión^{36, 152, 153}) admiten la existencia de una célula mesenquimal pluripotencial para explicar fenómenos de desdiferenciación, presencia de diferenciaciones múltiples y la transdiferenciación y retrodiferenciación observadas en cultivos de células neoplásicas y además, algunos de ellos la relacionan con las paredes vasculares. Las características de estas células en tejidos no neoplásicos, así como los estímulos que orientan su diferenciación están siendo investigados en el contexto de la ingeniería tisular que pretende la regeneración de tejidos a partir de estas células.

CÉLULA MADRE MESENQUIMAL

Las últimas investigaciones de ingeniería tisular y células madre describen funcional e inmunohistoquímicamente las células madre mesenquimales, como una célula madre común para las líneas de diferenciación mesenquimal y hematopoyética³⁸⁵. Otros trabajos proponen que la existencia de proteínas reguladoras de la proliferación de las células madre mesenquimales^{386, 387}. Se ha descrito con detalle la capacidad de

multidiferenciación de estas células que se han encontrado en diferentes tejidos como sangre, médula ósea, hígado, paredes arteriales, tejido adiposo y como ya hemos referido, cordón umbilical³⁷⁸ y placenta³⁷⁵.

También se hace referencia en la literatura a una célula indiferenciada que podría constituir el origen de las neoplasias mesenquimales³⁸⁴, en esta descripción el aspecto ultraestructural de la célula es parecido a la CPI, pero no se hace referencia a su relación con los vasos. En este sentido, también se ha descrito una línea celular neoplásica constituida por estas células madre mesenquimales³⁸⁸, y se ha estudiado mediante técnicas de biología molecular la oncogénesis a partir de células madre mesenquimales^{389, 390}.

Nosotros describimos ultraestructuralmente la morfología de estas células (CPI) en neoplasias mixoides (liposarcomas mixoides, rabdomiosarcomas, mixomas yuxta-articulares, angiomixomas agresivos, mixofibrosarcomas y sarcomas fibromixoides de bajo grado, condrosarcomas mixoides, paracordomas y cordomas (en estos cinco últimos constituyendo el tipo celular predominante). Por otra parte, en el estudio de vasos de cordones umbilicales, hemos encontrado células similares entre los miocitos. Estas células adoptan una disposición característica en pequeñas trabéculas perivasculares.

También hemos observado células con mayor grado de diferenciación (distintas dependiendo de la línea en cuestión que es lo que sirve para el diagnóstico) aisladas y más alejadas de los vasos. Y, además, hemos observado células intermedias entre estos dos tipos en el proceso de adquisición de rasgos de diferenciación.

Este patrón repetitivo nos sugiere:

-que la CPI podría corresponder a la célula mesenquimal pluripotencial proliferante (neoplásica), como ya hemos discutido, que podría adquirir progresivamente signos de diferenciación.

Su contrapartida celular normal sería la célula indeterminada que observamos en los cordones umbilicales estudiados en los vasos y que también se describe en la literatura³⁷⁸,

-que estaría en relación con el entorno de los vasos. Entre las células descritas en esta localización, podría compartir algunas características con las células fibrilares tal y como se describen en la literatura.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1: Excepto cuando existe diferenciación condral, la matriz de los tumores mesenquimales mixoides sólo aporta hallazgos diagnósticos marginales, por ejemplo en tumores adiposos o mixofibrosarcomas.

2: El estudio ultraestructural de estos tumores muestra cuatro tipos celulares:

- a) Células con diferenciación morfológicamente reconocible.
- b) Células sin diferenciación reconocible pero con morfología característica, de valor diagnóstico.
- c) Células perivasculares indiferenciadas de morfología característica.
- d) Células indiferenciadas no diagnósticas.

3: Los tumores en los que la diferenciación ultraestructural resulta reconocible en nuestra casuística son:

3.1 Tumores adiposos

- Lipoma de células fusiformes
- Liposarcoma mixoide

3.2 Tumores miofibroblásticos

- Fascitis nodular (seudotumoral)
- Fibroblastoma desmoplásico
- Miofibroblastoma mamario
- Mixoma yuxtacortical
- angiomixoma superficial
- Tumor fibromixoide osificante

3.3 Tumores con diferenciación hacia músculo liso

- Angioleiomioma
- Leiomioma
- Angiomixoma agresivo
- Leiomiosarcoma

3.4 Tumores con diferenciación rabdomioblástica

- Rabdomioma
- Rabdomiosarcoma

3.5 Tumores con diferenciación condral

- Condroma
- Condrosarcoma esquelético

3.6 Tumores con diferenciación hacia vainas de nervio periférico

- Schwannoma
- Neurofibroma

4: Los tumores con morfología característica, aunque sin diferenciación reconocible pueden agruparse como sigue:

4.1 Grupo de los mixomas

- Mixoma cardíaco
- Mixoma de vainas nerviosas

Están compuestos por células redondas intermedias sin diferenciación reconocible

4.2 Grupo del mixofibrosarcoma

- Mixofibrosarcoma
- Sarcoma fibromixóide

Compuestos por CPIs con ocasional diferenciación miofibroblástica o de músculo liso

4.3 Grupo del condrosarcoma mixoide

- Condrosarcoma mixoide
- Cordoma
- Paracordoma

Compuestos por células CPIs

5: Una parte considerable de los tumores mesenquimales mixoides muestran células perivasculares de morfología característica a partir de las cuales se diferencian estirpes celulares diferentes según las diversas neoplasias (48,3%).

Estas células constituyen la mayor parte de la neoplasia sin que se observe transición a formas más diferenciadas en 1/3 casos de diagnóstico indeterminado (33%), 7/7 cordomas (100%), 2/2 paracordomas (100%), 2/2 condrosarcomas extraesqueléticos (100%), y en 2/13 mixofibrosarcomas (15,4 %) es decir 14/87 casos (16%).

Y constituyen parte de la neoplasia observándose transición a formas más diferenciadas y formas intermedias en 1/2 (50%) lipomas de células fusiformes, 1/1 (100%) tumor lipomatoso atípico, 9/10 liposarcomas (90%), 5/13 mixofibrosarcomas (38,46%), 1/2 sarcomas fibromixoides de bajo grado (50%), 1/3 de los tumores miofibroblásticos benignos (33%), 6/8 rabdomiosarcomas (75%), 1/4 mixomas yuxtarticulares (25%), 2/2 angiomixomas agresivos (100%), 1/2 tumores fibromixoides osificantes (50%), es decir 26/87 casos en total (30%).

6: Los anteriores hallazgos sugieren que, al menos en una parte importante de los tumores mesenquimales, las alteraciones oncogénicas se producen en una célula

perivascular pluripotencial que resulta identificable ultraestructuralmente y que también se ha identificado en tejido mixoide no neoplásico (gelatina de Wharton).

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Allen PW. Myxoma is not a single entity: a review of the concept of myxoma. *Ann Diagn Pathol.*, 2000 Apr;4(2):99-123.
- ² Enjoji M, Hashimoto H. Diagnosis of soft tissue sarcomas. *Pathol Res Pract*, 1984; 178(3): 215-226.
- ³ Graadt van Roggen JF, Hogendoorn PC, Fletcher CD. Myxoid tumours of soft tissue. *Histopathology*, 1999; 35(4): 291-312.
- ⁴ Ninfo VV, Montesco MC. Myxoid tumors of soft tissues: a challenging pathological diagnosis. *Adv Clin Pathol*, 1998; 2(2): 101-115.
- ⁵ Schmidt D. Soft tissue neoplasms: progress and limits of pathologic-anatomic diagnosis. *Klin Padiatr*, 1987; 199(3): 204-208.
- ⁶ González-Cámpora R, Otal-Salaverri C, Hevia-Vázquez A, Muñoz-Muñoz G, Garrido-Cintado A, Galera-Davidson H. Fine needle aspiration in myxoid tumors of the soft tissues. *Acta Cytol*, 1990; 34(2): 179-191.
- ⁷ Trono D, Stadler J, Cox JN. Extraskelatal myxoid chondrosarcoma. A case report with histochemical and ultrastructural features. *Appl Pathol*, 1983; 1(3): 139-148.
- ⁸ Denk H, Krepler R, Artlieb U, Gabbiani G, Rungger-Brandle E, Leoncini P, Franke WW. Proteins of intermediate filaments. An immunohistochemical and biochemical approach to the classification of soft tissue tumors. *Am J Pathol*, 1983; 110(2): 193-208.
- ⁹ Brooks JJ. Immunohistochemistry of soft tissue tumors: progress and prospects. *Hum Pathol*, 1982; 13(11): 969-974.
- ¹⁰ Pfeifer JD, Hill DA, O'Sullivan MJ, Dehner LP. Diagnostic gold standard for soft tissue tumours: morphology or molecular genetics? *Histopathology*, 2000; 37: 485-500.
- ¹¹ Dei Tos AP, Dal Cin P. The role of cytogenetics in the classification of soft tissue tumours. *Virchows Arch*, 1997; 431(2): 83-94.
- ¹² Mawad JK, Mackay B, Raymond AK, Ayala AG. Electron microscopy in the diagnosis of small round cell tumors of bone. *Ultrastruct Pathol*, 1994; 18(1-2): 263-268.

- ¹³ Reddick RL, Michelitch H, Triche TJ. Malignant soft tissue tumors (malignant fibrous histiocytoma, pleomorphic liposarcoma, and pleomorphic rhabdomyosarcoma): an electron microscopic study. *Hum Pathol*, 1979; 10(3): 327-343.
- ¹⁴ Kindblom LG, Widehn S, Meis-Kindblom JM. The role of electron microscopy in the diagnosis of pleomorphic sarcomas of soft tissue. *Semin Diagn Pathol.*, 2003 Feb; 20(1):72-81.
- ¹⁵ Erlandson RA, Woodruff JM. Role of electron microscopy in the evaluation of soft tissue neoplasms, with emphasis on spindle cell and pleomorphic tumors. *Hum Pathol*, 1998; 29(12): 1372-81.
- ¹⁶ DeBlois G, Wang S, Kay S. Microtubular aggregates within rough endoplasmic reticulum: an unusual ultrastructural feature of extraskeletal myxoid chondrosarcoma. *Hum Pathol*, 1986; 17(5): 469-475.
- ¹⁷ Jabi M, Jeans D, Ardick I. Ultrastructural heterogeneity in malignant fibrous histiocytoma of soft tissue. *Ultrastruct Pathol*, 1987; 11(5-6): 583-592.
- ¹⁸ Tsuneyoshi M, Enjoji M, Iwasaki H, Shinohara N. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma: a clinicopathologic and electron microscopic study. *Acta Pathol Jpn*, 1981; 31(3): 439-447.
- ¹⁹ Lagace R, Delage C, Seemayer TA. Myxoid variant of malignant fibrous histiocytoma: ultrastructural observations. *Cancer*, 1979; 43(2): 526-534.
- ²⁰ Wetzel W, Alexander R. Myxoid liposarcoma. An ultrastructural study of two cases. *Am J Clin Pathol*, 1979; 72(4): 521-528.
- ²¹ Wetzel WJ, Ruhl KR. Microtubular aggregates in the rough endoplasmic reticulum of a myxoid chondrosarcoma. *Ultrastruct Pathol*, 1980; 1(4): 519-525.
- ²² Payne C, Dardick I, Mackay B. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma with intracisternal microtubules. *Ultrastruct Pathol*, 1994; 18(1-2): 257-261.
- ²³ Dardick I, Lagace R, Carlier MT, Jung RC. Chordoid sarcoma (extraskeletal myxoid chondrosarcoma) *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1983; 399(1): 61-78.
- ²⁴ Cameron CH, Kenny BD, Clements WD, Toner PG. Unusual extraskeletal myxoid chondrosarcoma. *Ultrastruct Pathol*, 1992; 16(1-2): 17-23.

- ²⁵ Tsuchida R, Ishida T, Uozaki H, Bessho F, Machinami R. Microtubular aggregates within the rough endoplasmic reticulum of embryonal rhabdomyosarcoma cells: a case report. *Ultrastruct Pathol*, 1999; 23(3): 193-198.
- ²⁶ Heymans O, Gebhart M, Alexiou J, de Saint Aubain N, Larsimont D. Intramuscular myxoma. *Acta Chir Belg*, 1998; 98(3): 120-122.
- ²⁷ Karabela-Bouropoulou V, Skourtas C, Liapi-Avgeri G, Mahaira H. Parachordoma: A case report of a very rare soft tissue tumor. *Pathol Res Pract*, 1996; 192(9): 972-978.
- ²⁸ Fukuda T, Tsuneyoshi M, Enjoji M. Malignant fibrous histiocytoma of soft parts: an ultrastructural quantitative study. *Ultrastruct Pathol*, 1988; 12(1): 117-129.
- ²⁹ Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Daimary Y, Enjoji M, Shinohara N. Intramuscular myxoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and electron microscopic study. *Cancer*, 1986; 58(3): 740-747.
- ³⁰ Rossouw DJ, Cinti S, Dickersin GR. Liposarcoma. An ultrastructural study of 15 cases. *Am J Clin Pathol*, 1986; 85(6): 649-667.
- ³¹ Wood GS, Beckstead JH, Turner RR, Hendrickson MR, Kempson RL, Warnke RA. Malignant fibrous histiocytoma tumor cells resemble fibroblasts. *Am J Surg Pathol*, 1986; 10(5): 323-325.
- ³² Martínez-Tello FJ, Navas-Palacios JJ. Ultrastructural study of conventional chondrosarcomas and myxoid and mesenchymal chondrosarcomas. *Virchows Arch (Pathol Anat)*, 1982; 396(2): 197-211.
- ³³ Battifora H, Núñez-Alonso C. Myxoid liposarcoma: study of ten cases. *Ultrastruct Pathol*, 1980; 1(2): 157-169.
- ³⁴ Lagace R, Jacob S, Seemayer TA. Myxoid liposarcoma. An electronmicroscopic study: biological and histogenetic considerations. *Virchows Arch A Pathol Anat*, 1979; 384(2): 159-172.
- ³⁵ Tsuneyoshi M, Enjoji M, Shinohara N. Malignant fibrous histiocytoma. An electron microscopic study of 17 cases. *Virchows Arch (Pathol Anat)*, 1981; 392(2): 135-145.

- ³⁶ Holzhausen HJ, Stiller D. Cellular differentiation in storiform-pleomorphic malignant fibrous histiocytomas. An electron microscopic study of histogenesis. *Zentralbl Allg Pathol*, 1988; 134(4-5): 363-381.
- ³⁷ Nielsen GP, O'Connell JX, Rosenberg AE. Intramuscular myxoma a clinicopathologic study of 51 cases with emphasis on hypercellular and hypervascular variants. *Am J Surg Pathol*, 1998; 22(10): 1222-1227.
- ³⁸ Orlandi A, Bianchi L, Spagnoli LG. Myxoid dermatofibrosarcoma protuberans: morphological, ultrastructural and immunohistochemical features. *J Cutan Pathol*, 1998; 25(7): 386-393.
- ³⁹ Goodlad JR, Mentzel T, Fletcher CD. Low grade fibromyxoid sarcoma: clinicopathological analysis of eleven new cases in support of a distinct entity. *Histopathology*, 1995; 26(3): 229-237.
- ⁴⁰ Vuzevski VD, van der Heul RO. Comparative ultrastructure of soft-tissue myxoid tumors. *Ultrastruct Pathol*, 1988; 12(1): 87-105.
- ⁴¹ Feldman PS. A comparative study including ultrastructure of intramuscular myxoma and myxoid liposarcoma. *Cancer* 1979; 43(2): 512-525.
- ⁴² Tsuneyoshi M, Hashimoto H, Enjoji M. Myxoid malignant fibrous histiocytoma versus myxoid liposarcoma. A comparative ultrastructural study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1983; 400(2): 187-199.
- ⁴³ Pardo-Mindán FJ, Guillén FH, Villas C, Vázquez JJ. A comparative ultrastructural study of chondrosarcoma, chordoid sarcoma, and chordoma. *Cancer*, 1981; 47(11): 2611-2619.
- ⁴⁴ Allen PW. Myxoid tumors of soft tissues. *Pathol Annu*, 1980; 15: 133-92.
- ⁴⁵ Kobayashi K, Kubota T, Aso T. Study on myofibroblast differentiation in the stromal cells of Wharton's jelly: expression and localization of alpha-smooth muscle actin. *Early Hum Dev*, 1998; 51(3): 223-233.

- ⁴⁶ Eyden BP, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgersen E. Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1994; 26(3): 347-355.
- ⁴⁷ Kohnen G, Kertschanska S, Demir R, Kaufmann P. Placental villous stroma as a model system for myofibroblast differentiation. *Histochem Cell Biol*, 1996; 105(6): 415-429.
- ⁴⁸ Asan E, Kaymaz FF, Cakar AN, Dagdeviren A, Beksac MS. Vasculogenesis in early human placental villi: an ultrastructural study. *Anat Anz*, 1999; 181(6): 549-554.
- ⁴⁹ Napolitano L. The differentiation of white adipose cells. An electron microscope study. *J cell biol*, 1963; 18:663-79.
- ⁵⁰ Dickersin GR. Embryonic ultrastructure as a guide in the diagnosis of tumors. *Ultrastruct Pathol*, 1987; 11(5-6): 609-652.
- ⁵¹ Schmidt U, Stuben G, Stuschke M, Donhuijsen K. Ultrastructural evidence for divergent and alternating differentiations in spindle cell sarcoma xenografts. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1997; 29(2): 187-195.
- ⁵² Carlen B, Onmdal C, Willen H, Mandahl N. The ultrastructure of fresh and cultured cells in fifteen soft tissue and bone tumors. *Anticancer Res*, 1992; 12(6B): 185-190.
- ⁵³ Labat ML, Milhaud G, Pouchelet M, Boireau P. On the track of a human circulating mesenchymal stem cell of neural crest origin. *Biomed Pharmacother*, 2000; 54(3): 146-162.
- ⁵⁴ Mori M, Miyazaki K. Factors affecting morphogenesis of rabbit gallbladder epithelial cells cultured in collagen gels. *Cell Tissue Res*, 2000; 300(2): 331-344.
- ⁵⁵ Fletcher CDM. *Diagnostic histopathology of tumors*. 2th edition Churchill and Livingstone London, 2000.
- ⁵⁶ Enzinger FM, Weiss SW. *Soft tissue tumors*. 3th edition. Mosby St Louis, 1995.
- ⁵⁷ Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon, 2002.
- ⁵⁸ Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol*, 1965; 27: 137A.

- ⁵⁹ Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, 1963; 17:208-212.
- ⁶⁰ Angervall L, Kindblom LG, Merck C. Myxofibrosarcoma. A study of 30 cases. *Acta Pathol Microbiol Scand (A)* 1977; 85:127-140.
- ⁶¹ Mentzel T, Calonje E, Wadden C, Camplejohn RS, Beham A, Smith MA, Fletcher CD. Myxofibrosarcoma: Clinicopathologic analysis of 75 cases with emphasis on the low-grade variant. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20(4): 391-405.
- ⁶² Hollowood K, Fletcher CD. Soft tissue sarcomas that mimic benign lesions. *Seminars in diagnostic pathology*, 1995; 12(1): 87-97.
- ⁶³ Kempson RL, Fletcher CDM, Evans HL, Hendrickson MR, Sibley RK. AFIP. Atlas of tumor Pathology. Third series, fascicle 30: Tumors of the soft tissues. Washington, 2001.
- ⁶⁴ Suster S, Fisher C. Immunoreactivity for the human hematopoietic progenitor cell antigen (CD34) in lipomatous tumors. *Am J Surg Pathol*, 1997; 21: 195-200.
- ⁶⁵ Meis-Kindblom JM, Sjogren H, Kindblom LG, Peydro-Mellquist A, Roijer E, Aman P, Stenman G. Cytogenetic and molecular genetic analyses of liposarcoma and its soft tissue simulators: recognition of new variants and differential diagnosis. *Virchows Arch*, 2001; 439(2):141-51.
- ⁶⁶ Shmookler BM, Enzinger FM. Liposarcoma occurring in children. An analysis of 17 cases and review of the literature. *Cancer*, 1983; 52: 567-74.
- ⁶⁷ Nelson V, Fernandes NF, Woolf GM, Geller SA, Petrovic LM. Primary liposarcoma of the liver: a case report and review of literature. *Arch Pathol Lab Med*, 2001; 125(3):410-2.
- ⁶⁸ Seki K, Hasegawa T, Konegawa R, Hizawa K, Sano T. Primary liposarcoma of the stomach: a case report and a review of the literature. *Jpn J Clin Oncol*, 1998; 28(4):284-8.
- ⁶⁹ Pawel BR, de Chadarevian JP, Inniss S, Kalwinski P, Paul SR, Weintraub WH. Mesenteric pleomorphic liposarcoma in an adolescent. *Arch Pathol Lab Med*, 1997; 121(2):173-6.
- ⁷⁰ Hisaoka M, Morimitsu Y, Hashimoto H, Ishida T, Mukai H, Satoh H, Motoi T, Machinami R. Retroperitoneal liposarcoma with combined well-differentiated and myxoid malignant fibrous

histiocytoma-like myxoid areas. American Journal of Surgical Pathology, 1999; 23(12): 1480-1492.

⁷¹ Sharma BS, McGuigan JA, Bharucha H, Bailey IC. Aggressive myxoid liposarcoma of mediastinum. Ulster Med J, 1992; 61(2):193-7.

⁷² Hisaoka M, Tsuji S, Morimitsu Y, Hashimoto H, Shimajiri S, Komiya S, Ushijima M. Detection of TLS/FUS-CHOP fusion transcripts in myxoid and round cell liposarcomas by nested reverse transcription-polymerase chain reaction using archival paraffin-embedded tissues. Diagn Mol Pathol, 1998; 7(2):96-101.

⁷³ Rabbitts TH, Forster A, Larson R, Nathan P. Fusion of the dominant negative transcription regulator CHOP with a novel gene FUS by translocation t(12;16) in malignant liposarcoma. Nat Genet, 1993; 4(2):175-80.

⁷⁴ Ohjimi Y, Iwasaki H, Kaneko Y, Ishiguro M, Ohgami A, Fujita C, Shinohara N, Yoshitake K, Kikuchi M. Chromosome abnormalities in liposarcomas. Cancer Genet Cytogenet, 1992; 64(2):111-7.

⁷⁵ Ohjimi Y, Iwasaki H, Ishiguro M, Ohgami A, Yoshitake K, Fujita C, Kikuchi M, Shinohara N, Kaneko Y. Myxoid liposarcoma with t (12; 16)(q 13; p 11). Possible usefulness of chromosome analysis in a poorly differentiated sarcoma. Pathol Res Pract, 1992; 188(6):736-41.

⁷⁶ Gisselsson D, Domanski HA, Hoglund M, Carlen B, Mertens F, Willen H, Mandahl N. Unique cytological features and chromosome aberrations in chondroid lipoma: a case report based on fine-needle aspiration cytology, histopathology, electron microscopy, chromosome banding, and molecular cytogenetics. Am J Surg Pathol, 1999; 23(10):1300-4.

⁷⁷ Vasiu R, Olinici CD, Blaga L. Study on the nucleolar organiser regions in soft tissue liposarcoma. Rom J Morphol Embryol, 1996; 42(3-4):219-23.

⁷⁸ Fu YS, Parker FG, Kaye GI, Lattes R. Ultrastructure of benign and malignant adipose tissue tumors. Pathol Annu, 1980; 1: 67-89.

⁷⁹ Guevara ME, Machinami R, Higaki S. Crystalline inclusion in myxoid liposarcoma. Acta Pathol Jpn, 1981; 31(4):689-94.

- ⁸⁰ Chapter 17: Liposarcoma, pg: 641-693 in: Weiss SR, Goldblum JR (eds). Enzinger and Weiss's: Soft tissue tumors. 4th ed. Mosby Ed, St Louis, 2001.
- ⁸¹ Bolen JW, Thorning D. Benign lipoblastoma and myxoid liposarcoma: a comparative light- and electron-microscopic study. *Am J Surg Pathol*, 1980; 4(2):163-74.
- ⁸² Spanier SS, Floyd J. A clinicopathologic comparison of malignant fibrous histiocytoma and liposarcoma. *Instr Course Lect*, 1989;38:407-17.
- ⁸³ Akerman M, Rydholm A. Aspiration cytology of intramuscular myxoma. A comparative clinical, cytologic and histologic study of ten cases. *Acta Cytol*, 1983; 27(5):505-10.
- ⁸⁴ Napolitano LM. Observations on the fine structure of adipose cells. *Ann N Y Acad Sci*. 1965; 131(1):34-42.
- ⁸⁵ Hang ZB, Wei YQ. [Ultrastructural analysis of liposarcoma]. (abstract). *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 1993; 22(5):269-71.
- ⁸⁶ Lopez-Gines C, Navarro S, Peydro-Olaya A, Pellin A, Llombart-Bosch A. Malignant myxoid liposarcoma: an immunohistochemical, electron-microscopical and cytogenetical analysis. *Appl Pathol*, 1989; 7(5):285-93.
- ⁸⁷ Toriyama K, Kawaguchi N, Kitoh J, Tajima R, Inou K, Kitagawa Y, Torii S. Endogenous adipocyte precursor cells for regenerative soft-tissue engineering. *Tissue Eng*. 2002 Feb;8(1):157-65.
- ⁸⁸ Harrison AC, Kahn LB. Myogenic cells in Kaposi's sarcoma: an ultrastructural study. *J Pathol*, 1978; 124(3):157-60.
- ⁸⁹ González-Lois C, Ibarrola C, Ballestín C, Martínez-Tello FJ. Dedifferentiated liposarcoma of the pyriform sinus: report of a case and review of the literature. *International Journal of Surgical Pathology*, 2002. 10(1): 75-79.
- ⁹⁰ Fibroblastic tumors, pg.: 360, in: Erlandson RE: *Diagnostic Transmission Electron microscopy of tumors*. Raven Press ed, New York, 1994.

- ⁹¹ Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone. IARC Press: Lyon 2002. Miettinen M, Bridge JA. Desmoplastic fibroblastoma. Pg: 67.
- ⁹² Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone. IARC Press: Lyon 2002. McMenamin ME, Bridge JA. Mammary-type myofibroblastoma. Pg.: 68.
- ⁹³ Weiss SW, Enzinger FM. Malignant fibrous histiocytoma: an analysis of 200 cases. Cancer 1978; 41(6):2250-66.
- ⁹⁴ Weiss SW, Enzinger FM. Myxoid variant of malignant fibrous histiocytoma. Cancer 1977; 39(4):1672-85.
- ⁹⁵ Enjoji M, Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Iwasaki H. Malignant fibrous histiocytoma. A clinicopathologic study of 130 cases. Acta Pathol Jpn 1980; 30(5):727-41.
- ⁹⁶ Bertoni F, Bacchini P. Myxoid variety of malignant fibrous soft tissue histiocytoma. Ital J Orthop Traumatol 1979; 5(1):101-9.
- ⁹⁷ Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer (2002). <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- ⁹⁸ Erlandson RA. Diagnostic transmission electron microscopy of tumors. Raven Press New York, 1994.
- ⁹⁹ Dickersin GR. Diagnostic electron microscopy. 2th edition Springer-Verlag New York, 2000.
- ¹⁰⁰ Kindblom L-G, Merck C, Angervall L. The ultrastructure of myxofibrosarcoma. A study of 11 cases. Virchows Arch. A Pathol Anat and Histol, 1979; 381:121-139.
- ¹⁰¹ Huang WL, Ordonez NG, Mackay B. Myxoid malignant fibrous histiocytoma with erythrophagocytosis. Ultrastruct Pathol 1989; 13(2-3):315-23.
- ¹⁰² Silverman JF, Coalson JJ. Primary malignant myxoid fibrous histiocytoma of the lung. Light and ultrastructural examination with review of the literature. Arch Pathol Lab Med 1984; 108(1):49-54.

- ¹⁰³ Lagace R. The ultrastructural spectrum of malignant fibrous histiocytoma. *Ultrastruct Pathol* 1987; 11(2-3):153-9.
- ¹⁰⁴ Taxy JB, Battifora H. Malignant fibrous histiocytoma. An electron microscopic study. *Cancer* 1977; 40(1):254-67.
- ¹⁰⁵ Genberg M, Mark J, Hakelius L, Ericsson J, Nister M. Origin and relationship between different cell types in malignant fibrous histiocytoma. *Am J Pathol* 1989; 135(6):1185-96.
- ¹⁰⁶ Iwasaki H, Isayama T, Johzaki H, Kikuchi M. Malignant fibrous histiocytoma. Evidence of perivascular mesenchymal cell origin. Immunocytochemical studies with monoclonal anti-MFH antibodies. *Am J Pathol*, 1987; 128. 528-537.
- ¹⁰⁷ Roholl PJM, Elbers HRJ, Prinsen I, Claessens JAJ, van Unnik JAM. Distribution of actin isoforms in sarcomas: an immunohistochemical study. *Hum Pathol*, 1990; 21: 1269-1274.
- ¹⁰⁸ Tralka TS, Yee C, Triche TJ, Costa J, Dienes HP Unusual intranuclear inclusions in malignant fibrous histiocytoma: presence in primary tumor, metastases, and xenografts. *Ultrastruct Pathol*, 1982; 3(2):161-7.
- ¹⁰⁹ Tsuneyoshi M, Enjoji M. Postirradiation sarcoma (malignant fibrous histiocytoma) following breast carcinoma: an ultrastructural study of a case. *Cancer*, 1980; 45(6):1419-23.
- ¹¹⁰ Hirose T, Sano T, Abe J, Hizawa K, Hatakeyama S, Mori I. Malignant fibrous histiocytoma with epithelial differentiation? *Ultrastruct Pathol*, 1988; 12(5):529-36.
- ¹¹¹ Folpe A, van den Berg E, Molenaar WM. Low grade fibromyxoid sarcoma. Pg.: 104-105. In: Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon, 2002.
- ¹¹² Domínguez-Malagon H. Proliferative disorders of myofibroblasts. *Ultrastructure Pathol*, 1993; 17: 211-220.
- ¹¹³ Karrer ME. Electron microscopic study of developing chick embryo aorta. *J Ultrastruct Res*, 1960; 4: 424-454.
- ¹¹⁴ Cliff WJ. The aortic tunica media in growing rats studied with the electron microscope. *Lab Invest*, 1967; 17: 599-605.

- ¹¹⁵ Ross R, Klebanoff SJ. Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblasts in response to estrogen. *J Cel Biol*, 1967; 32: 155-167.
- ¹¹⁶ Gabbiani G, Ryan GB, Majno G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia*, 1971; 27: 549-550.
- ¹¹⁷ Abercombie M, Flint MH, James DW. Wound contraction in relation to collagen formation in scorbutic guinea pigs. *J Embriol Exp Morphol*, 1956; 4: 167-176.
- ¹¹⁸ Singer II. The fibronexus: a transmembrane association of fibronectin-containing fibres and bundles of 5 nm microfilaments in hamster and human fibroblasts. *Cell*, 1979; 16: 675-685.
- ¹¹⁹ Fernández-Madrid F, Noonan S, Riddle J. The spindled-shaped body in fibroblasts: intracellular collagen fibrils. *J Anat*, 1981; 132: 157-166.
- ¹²⁰ Gabbiani G, Ryan GB, Lamelin JP. Human smooth muscle autoantibody. Its identification as antiactin antibody and a study of its binding to “non-muscular” cells. *Am J Pathol*, 1973; 72: 473-488.
- ¹²¹ Karrek HE. An electron microscope study of the aorta in young and aging mice. *J Ultrastruct Res*, 1961; 5:1-27.
- ¹²² Rudolph R, Guber S, Suzuki M, Woodward M. The life cycle of the myofibroblast. *Surg Gynecol Obstet*, 1977; 145: 389-393.
- ¹²³ Gabbiani G, Le Lous M, Bailey AJ, Bazin S, Delaunay A. Collagen and myofibroblasts in granulation tissue. *Virchows Arch Cel Pathol*, 1976; 21: 133-145.
- ¹²⁴ Gabbiani G, Majno G. Dupuytren’s contracture: fibroblast contraction? An ultrastructural study. *Am J Pathol*, 1972; 66: 132-138.
- ¹²⁵ Ryan GB, Cliff WJ, Gabbiani G, et al. Myofibroblasts in avascular fibrous tissue. *Lab Invest*, 1973; 29: 197-206.
- ¹²⁶ Willingham MC, Yamada KM, Yamada SS et al. Microfilament bundles and cell shape are related to adhesiveness to substratum and are dissociable from growth control in cultured fibroblasts. *Cell*, 1977; 10: 375-380.

- ¹²⁷ Eddy RJ, Petro JA, Tomsek JJ. Evidence of the muscle nature of the “myofibroblast” of granulation tissue and hypertrophic scar. An immunofluorescence study. *Am J Pathol*, 1988; 130: 252-260.
- ¹²⁸ Esterly JA, Glagov S, Ferguson DJ. Morphogenesis of intimal obliterative hyperplasia of small arteries in experimental pulmonary hypertension: an ultrastructural study of the role of smooth muscle cells. *Am J Pathol*, 1968; 52: 325-336.
- ¹²⁹ Ross R. The smooth muscle cell: II. Growth of smooth muscle in culture and formation of elastic fibers. *J Cell Biol*, 1971; 50: 172-186.
- ¹³⁰ Scottiurai VS, Fry WJ, Stanley JC. Ultrastructure of medial smooth muscle and myofibroblasts in human arterial dysplasia. *Arch Surg*, 1978; 113: 1280-1285.
- ¹³¹ Foidart JM, Bere EW Jr, Year M, et al. Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin, a non collagenous basement membrane glycoprotein. *Lab Invest*, 1980; 42:336-342.
- ¹³² Terranova VP, Rohrbach DH, Martin GR. Role of laminin in the attachment of PSM 212 (epithelial) cells to basement membrane collagen. *Cell*, 1980; 22: 719-726.
- ¹³³ Yamada KM. Cell surface interactions with extracellular materials. *Annu Rev Biochem*, 1983; 52: 761-799.
- ¹³⁴ Scott RF, Jones R, Daoud AS, et al. Experimental atherosclerosis in rhesus monkeys: II. Cellular elements of proliferative lesion and possible role of cytoplasmic degeneration in pathogenesis as studied by electron microscopy. *Exp Mol Pathol*, 1967; 7: 34-57.
- ¹³⁵ Kalenkamp D, Stiller D. Structural patterns and histological behaviour of experimental sarcomas. *Ultrastruct Cytol Exp Pathol (Jena)*, 1975; 11: 190-197.
- ¹³⁶ Skalli O, Schurch T, Seemayer TA, et al. Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogeneous in their content of actin isoforms and intermediate filament proteins. *Lab Invest*, 1989; 60: 275-285.
- ¹³⁷ Lagace R, Schurch W, Seemayer Ta. Myofibroblasts in soft tissue sarcomas. *Virchows Arch A*, 1980; 389: 1- 11.

- ¹³⁸ Ryan GB, Cliff WJ, Gabbiani G, et al . Myofibroblasts in human granulation tissue. *Hum Pathol*, 1974; 5: 55-63.
- ¹³⁹ Seemayer TA, Lagace R, Schurch W, Thelmo WI. The myofibroblast: Biologic, pathologic and theoretical considerations. *Pathol Annu*, 1980; 15: 443-470.
- ¹⁴⁰ Seemayer TA, Schurch W, Lagace R, Tremblay G. Myofibroblasts in the stroma of invasive and metastatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 1979; 3: 525-533.
- ¹⁴¹ Schurch W, Seemayer TA, Gabbiani G. The myofibroblast: a quarter century after its discovery. *Am J Surg Pathol*, 1998; 22(2):141-7.
- ¹⁴² Eyden BP, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgersen E. Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1994; 26(3):347-55.
- ¹⁴³ Eyden B. Smooth-muscle-type myofilaments and actin in reactive and neoplastic nonmuscle cells. *Ultrastruct Pathol (Readers' Forum)*, 2000; 24: 347-352.
- ¹⁴⁴ Bhawan J, Majno G. The myofibroblast. Possible derivation from macrophages in xanthogranuloma. *Am J Dermatopathol*, 1989; 11(3):255-8.
- ¹⁴⁵ Fan JM, Ng YY, Hill PA, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC, Lan HY. Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int*, 1999; 56(4): 1455-1467.
- ¹⁴⁶ Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. *Am J Physiol*, 1999; 277 (1 Pt 1): C1-9.
- ¹⁴⁷ Schmitt-Graff A, Desmouliere A, Gabbiani G. Heterogeneity of myofibroblast phenotypic features: an example of fibroblastic cell plasticity. *Virchows Arch*, 1994; 425(1): 3-24.
- ¹⁴⁸ Seemayer TA, Schurch W, Lagace R. Myofibroblast in human pathology. *Hum Pathol*, 1981; 12(6): 491-492.
- ¹⁴⁹ Dickersin GR, Selig MK, Park YN. The many faces of smooth muscle neoplasms in a gynecological sampling: an ultrastructural study. *Ultrastruct Pathol*, 1997; 21(2): 109-134.

- ¹⁵⁰ Las Heras J, Haust MD. Ultrastructure of fetal stem arteries of human placenta in normal pregnancy. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*, 1981; 393(2): 133-144.
- ¹⁵¹ Feller AC, Schneider H, Schmidt D, Parwaresch MR. Myofibroblast as a major cellular constituent of villous stroma in human placenta. *Placenta*, 1985; 6(5): 405-415.
- ¹⁵² Hildebrand HF, Tetaert D. Ni3S2-induced leiomyosarcomas in rabbit skeletal muscle: analysis of the tumoral myosin and its significance in the retrodifferentiation concept. *Oncodev Biol Med*, 1981; 2(1-2):101-8.
- ¹⁵³ Dastur DK, Manghani DK. Ultrastructural changes in medullomyoblastoma. Similarities with foetal rhabdomyoma. *Neurol India*, 1999; 47(3):178-81.
- ¹⁵⁴ Hashimoto H, Quade B, Evans HL, Shipley J. Chapter 4: Smooth muscle tumours. Pg.: 128-134. In: Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon 2002.
- ¹⁵⁵ Nascimiento AG, Karas M, Rosen PP, Caron AG. Leiomyoma of the nipple. *American Journal of Surgical Pathology*, 1979; 3: 151-154.
- ¹⁵⁶ Kapadia SB, Barr FG, Parham DM, Montgomery E. Chapter 6: Skeletal muscle tumours. Pg.: 142-154. In: Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon 2002.
- ¹⁵⁷ Sidhu JS, Nicolas MM, Taylor W. Mediastinal rhabdomyoma: a case report and review of the literature. *Int J Surg Pathol*, 2002; 10(4):313-8.
- ¹⁵⁸ Gibas Z, Miettinen M. Recurrent parapharyngeal rhabdomyoma. Evidence of neoplastic nature of the tumor from cytogenetic study. *Am J Surg Pathol*, 1992; 16(7):721-8.
- ¹⁵⁹ Blaauwgeers JL, Troost D, Dingemans KP, Taat CW, Van den Tweel JG. Multifocal rhabdomyoma of the neck. Report of a case studied by fine-needle aspiration, light and electron microscopy, histochemistry, and immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol*, 1989; 13(9):791-9.

- ¹⁶⁰ Tanda F, Rocca PC, Bosincu L, Massarelli G, Cossu A, Manca A. Rhabdomyoma of the tunica vaginalis of the testis: a histologic, immunohistochemical, and ultrastructural study. *Mod Pathol*, 1997; 10(6):608-11.
- ¹⁶¹ Eusebi V, Ceccarelli C, Cancellieri A, Derenzini M. Nucleolar organizer regions in normal skeletal muscle and benign and malignant rhabdomyoblastic tumors. *Tumori*, 1989; 75(1):4-7.
- ¹⁶² Martínez-González MA, deAgustín-deAgustín PP, Pérez-Barrios A, Alberti-Masgrau N, Ortega-Serrano MP. Cap. 4: Características ultraestructurales de los principales tipos de tumores, en: *Microscopía Electrónica Aplicada a la PAAF*. Ed.: Stock-Cero, Madrid, 1998. ISBN: 84-92279722-9.
- ¹⁶³ Balatsouras DG, Eliopoulos PN, Economou CN. Adult-type rhabdomyoma of the submandibular region. *J Otolaryngol*, 1993; 22(1):14-7.
- ¹⁶⁴ Crotty PL, Nakhleh RE, Dehner LP. Juvenile rhabdomyoma. An intermediate form of skeletal muscle tumor in children. *Arch Pathol Lab Med.*, 1993; 117(1):43-7.
- ¹⁶⁵ Sadi AM, Toda T, Kiyuna M, Tamamoto T, Kina K, Hirayasu K, Yara A. Cardiac rhabdomyoma of a neonate: an autopsy case report. *Acta Paediatr Jpn*, 1996; 38(4):361-4.
- ¹⁶⁶ Bosman C, Boldrini R, Ballerini L, Baldini D, Marcelletti C. Myocardial rhabdomyoma with rhabdomyoblastic moiety. *Gen Diagn Pathol*, 1996; 141(5-6):393-8.
- ¹⁶⁷ Napier SS, Pagni CG, McGimpsey JG. Sublingual adult rhabdomyoma. Report of a case. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1991; 20(4):201-3.
- ¹⁶⁸ Kim CJ, Cho JH, Chi JG, Kim YJ. Multiple rhabdomyoma of the heart presenting with a congenital supraventricular tachycardia--report of case with ultrastructural study. *J Korean Med Sci.*, 1989; 4(3):143-7.
- ¹⁶⁹ Konrad EA, Meister P, Hubner G. Extracardiac rhabdomyoma: report of different types with light microscopic and ultrastructural studies. *Cancer*, 1982; 49(5):898-907.
- ¹⁷⁰ Lehtonen E, Asikainen U, Badley RA. Rhabdomyoma: ultrastructural features and distribution of desmin, muscle type of intermediate filament protein. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A]*, 1982; 90(2):125-9.

- ¹⁷¹ Warner TF, Goell W, Sundharadas M, Falk VS. Adult rhabdomyoma: ultrastructure and immunocytochemistry. *Arch Pathol Lab Med*, 1981; 105(11):608-11.
- ¹⁷² Fukuda Y, Okamura HO, Nemoto T, Kishimoto S. Rhabdomyoma of the base of the tongue. *J Laryngol Otol*, 2003; 117(6):503-7.
- ¹⁷³ Bock D, Bock P. Rhabdomyoma of the soft palate. Fine structural details of a highly differentiated muscle tumor. *Histol Histopathol*, 1987; 2(3):285-9.
- ¹⁷⁴ Gale N, Rott T, Kambic V. Nasopharyngeal rhabdomyoma. Report of case (light and electron microscopic studies) and review of the literature. *Pathol Res Pract*, 1984; 178(5):454-60.
- ¹⁷⁵ Benvenuti LA, Aiello VD, Fukasawa S, Higuchi ML. Cardiac rhabdomyomas exhibit a fetal pattern of atrial natriuretic peptide immunoreactivity. *Exp Mol Pathol*, 2001; 70(1):65-9.
- ¹⁷⁶ Trillo AA, Holleman IL, White JT. Presence of satellite cells in a cardiac rhabdomyoma. *Histopathology*, 1978; 2(3):215-23.
- ¹⁷⁷ Cecchetto G, Bisogno G, Treuner J, Ferrari A, Mattke A, Casanova M, Dall'Igna P, Zanetti I, Volpato S, Siracusa F, Scarzello G, Boglino C, Carli M; Italian and German Soft Tissue Cooperative Groups Studies. Role of surgery for nonmetastatic abdominal rhabdomyosarcomas: a report from the Italian and German Soft Tissue Cooperative Groups Studies. *Cancer*. 2003 Apr 15;97(8):1974-80.
- ¹⁷⁸ Fisher C. The value of electronmicroscopy and immunohistochemistry in the diagnosis of soft tissue sarcomas: a study of 200 cases. *Histopathology*, 1990; 16(5):441-54.
- ¹⁷⁹ Suh CH, Ordonez NG, Hicks J, Mackay B. Ultrastructure of the Ewing's sarcoma family of tumors. *Ultrastruct Pathol*, 2002; 26(2):67-76.
- ¹⁸⁰ Comin CE. Undifferentiated sarcomas: role of electron microscopy in their differential diagnosis. *Pathologica*, 2000; 92(2):125-8.
- ¹⁸¹ Mierau GW, Weeks DA, Hicks MJ. Role of electron microscopy and other special techniques in the diagnosis of childhood round cell tumors. *Hum Pathol*, 1998; 29(12):1347-55.

- ¹⁸² Pawel BR, Hamoudi AB, Asmar L, Newton WA Jr, Ruymann FB, Qualman SJ, Webber BL, Maurer HM. Undifferentiated sarcomas of children: pathology and clinical behavior—an Intergroup Rhabdomyosarcoma study. *Med Pediatr Oncol*, 1997; 29(3):170-80.
- ¹⁸³ Kawauchi S, Fukuda T, Tsuneyoshi M. Differentiating small round cell sarcomas of the soft parts by an innovative immunogold labeling method: an ultrastructural study. *Ultrastruct Pathol*, 1996; 20(6):549-61.
- ¹⁸⁴ Mierau GW, Berry PJ, Malott RL, Weeks DA. Appraisal of the comparative utility of immunohistochemistry and electron microscopy in the diagnosis of childhood round cell tumors. *Ultrastruct Pathol*, 1996; 20(6):507-17.
- ¹⁸⁵ d'Amore ES, Ninfo V. Soft tissue small round cell tumors: morphological parameters. *Semin Diagn Pathol*, 1996; 13(3):184-203.
- ¹⁸⁶ Min KW. Usefulness of electron microscopy in the diagnosis of "small" round cell tumors of the sinonasal region. *Ultrastruct Pathol*, 1995; 19(5):347-63.
- ¹⁸⁷ Fisher C, Flood LM, Ramsey AD. The role of electron microscopy in the diagnosis of tumours of the head and neck. *J Laryngol Otol*, 1992; 106(5):403-8.
- ¹⁸⁸ Mills SE, Fechner RE. "Undifferentiated" neoplasms of the sinonasal region: differential diagnosis based on clinical, light microscopic, immunohistochemical, and ultrastructural features. *Semin Diagn Pathol*, 1989; 6(4):316-28.
- ¹⁸⁹ Liu FS. [Ultrastructural analysis in differential diagnosis of tumors] (abstract) *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 1988; 10(4):277-9.
- ¹⁹⁰ Harb JM, Piaskowski V, Casper JT. Contribution of electron microscopy of cell cultures to the classification of three round cell sarcomas in children. *Ultrastruct Pathol*, 1985; 8(2-3):165-76.
- ¹⁹¹ Mierau GW, Berry PJ, Orsini EN. Small round cell neoplasms: can electron microscopy and immunohistochemical studies accurately classify them? *Ultrastruct Pathol*, 1985; 9(1-2):99-111.

- ¹⁹² Schurch W, Begin LR, Seemayer TA, Lagace R, Boivin JC, Lamoureux C, Bluteau P, Piche J, Gabbiani G. Pleomorphic soft tissue myogenic sarcomas of adulthood. A reappraisal in the mid-1990s. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20(2):131-47.
- ¹⁹³ Weiss LM, Warhol MJ. Ultrastructural distinctions between adult pleomorphic rhabdomyosarcomas, pleomorphic liposarcomas, and pleomorphic malignant fibrous histiocytomas. *Hum Pathol*, 1984; 15(11):1025-33.
- ¹⁹⁴ Stiller D, Holzhausen HJ. Ultrastructural organization of cell characteristics relevant to diagnosis in rhabdomyosarcomas. *Zentralbl Allg Pathol*, 1988; 134(4-5):449-66.
- ¹⁹⁵ Kordek R, Niewiadomska H, Liberski PP. Membrane-bound paracrystalloid structures in alveolar rhabdomyosarcoma. *Pol J Pathol*, 2000; 51(4):197-9.
- ¹⁹⁶ Bundtzen JL, Norback DH. The ultrastructure of poorly differentiated rhabdomyosarcomas: a case report and literature review. *Hum Pathol*, 1982; 13(4):301-13.
- ¹⁹⁷ Hang ZB. [Comparative study on ultrastructure of rhabdomyosarcoma and embryonal striated muscle] (abstract). *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 1990; 12(5):363-5.
- ¹⁹⁸ Hinton DR, Halliday WC. Primary rhabdomyosarcoma of the cerebellum--a light, electron microscopic, and immunohistochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1984; 43(4):439-49.
- ¹⁹⁹ Seidal T, Kindblom LG. The ultrastructure of alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma. A correlative light and electron microscopic study of 17 cases. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A]*, 1984; 92(4):231-48.
- ²⁰⁰ Balazs M, Schaff Z, Ihasz M. Electron microscopic study of pleomorphic rhabdomyosarcoma of adult skeletal muscle. *Zentralbl Allg Pathol*, 1983; 128(5-6):357-68.
- ²⁰¹ Hildebrand HF, Kerckaert JP, Biserte G, Tetaert D, Grandier-Vazeille X. Tumoral myosins of NI3S2-induced rhabdomyosarcomas in rat and rabbit: comparative studies with adult and fetal myosins of skeletal muscle. *Eur J Cell Biol*, 1980; 20(3):240-8.
- ²⁰² Hildebrand HF, Biserte G. Ultrastructural investigation of NI3S2-induced rhabdomyosarcoma in Wistar rat: comparative study with emphasis on myofibrillar differentiation and ciliar formation. *Cancer*, 1978; 42(2):528-54.

- ²⁰³ Prince FP. Ultrastructural aspects of myogenesis found in neoplasms. *Acta Neuropathol* (Berl), 1981; 54(4):315-20.
- ²⁰⁴ Ferlicot S, Quillard J, Chardot C, Caillou B, Oberlin O, Gauthier F, Fabre M. Unusual site of an embryonal rhabdomyosarcoma of the mesenchymal hepatic pedicle. *Ann Pathol*, 1999; 19(6):521-4.
- ²⁰⁵ Melguizo C, Prados J, Aneiros J, Fernandez JE, Velez C, Aranega A. Differentiation of a human rhabdomyosarcoma cell line after antineoplastic drug treatment. *J Pathol*, 1995; 175(1):23-9.
- ²⁰⁶ Lombardi L, Pilotti S. Ultrastructural characterization of poorly differentiated rhabdomyosarcomas. *Ultrastruct Pathol*, 1993; 17(6):669-80.
- ²⁰⁷ Hosoi H, Sugimoto T, Hayashi Y, Inaba T, Horii Y, Morioka H, Fushiki S, Hamazaki M, Sawada T. Differential expression of myogenic regulatory genes, MyoD1 and myogenin, in human rhabdomyosarcoma sublines. *Int J Cancer*, 1992; 50(6):977-83.
- ²⁰⁸ Bundtzen JL, Norback DH. The ultrastructure of poorly differentiated rhabdomyosarcomas: a case report and literature review. *Hum Pathol*, 1982; 13(4):301-13.
- ²⁰⁹ Miyagami M, Katayama Y, Kinukawa N, Sawada T. An ultrastructural and immunohistochemical study of olfactory neuroepithelioma with rhabdomyoblasts. *Med Electron Microsc*, 2002; 35(3):160-6.
- ²¹⁰ Inagaki T, Nagata M, Kaneko M, Amagai T, Iwakawa M, Watanabe T. Carcinosarcoma with rhabdoid features of the urinary bladder in a 2-year-old girl: possible histogenesis of stem cell origin. *Pathol Int*, 2000; 50(12):973-8.
- ²¹¹ Kobayashi S, Hirakawa E, Sasaki M, Ishikawa M, Haba R. Meningeal rhabdomyosarcoma. Report of a case with cytologic, immunohistologic and ultrastructural studies. *Acta Cytol*, 1995; 39(3):428-34.
- ²¹² Eusebi V, Damiani S, Pasquinelli G, Lorenzini P, Reuter VE, Rosai J. Small cell neuroendocrine carcinoma with skeletal muscle differentiation: report of three cases. *Am J Surg Pathol*, 2000; 24(2):223-30.

- ²¹³ Edwards V, Tse G, Doucet J, Pearl R, Phillips MJ. Rhabdomyosarcoma metastasizing as a malignant ectomesenchymoma. *Ultrastruct Pathol*, 1999; 23(4):267-73.
- ²¹⁴ Parham DM, Kelly DR, Donnelly WH, Douglass EC. Immunohistochemical and ultrastructural spectrum of hepatic sarcomas of childhood: evidence for a common histogenesis. *Mod Pathol*, 1991; 4(5):648-53.
- ²¹⁵ Salzano RP Jr, Tomkiewicz Z, Africano WA. Dedifferentiated liposarcoma with features of rhabdomyosarcoma. *Conn Med*, 1991; 55(4):200-2.
- ²¹⁶ Martínez González MA, de Agustín de Agustín PP, Pérez Barrios A, Alberti Masgrau N, Ortega Serrano MP. Microscopía Electrónica Aplicada a la PAAF. Cap. 3. Examen de muestras de tumores mediante ME (matriz intercelular). Pags. 14-15. 1998.
- ²¹⁷ Hunziker EB, Herrmann W. Ultrastructure of cartilage. In Bonecci E, Motta PM (eds). *Ultrastructure of skeletal tissue*. Chapter 5, pags.: 79-110. Kluwer Academic Publishers Boston, 1990.
- ²¹⁸ Ghadially. It is a chondroid tumour or a chordoma? In *Diagnostic electron microscopy of tumours*. 2th edition Chapter 20, pgs 300-318. Butterworths London, 1985.
- ²¹⁹ Cartilaginous tumors, pg: 314-321 in: Erlandson RE. *Diagnostic Transmission Electron microscopy of tumors*. Raven Press ed, New York, 1994.
- ²²⁰ Stout AP. Myxoma, the tumor of primitive mesenchyme. *Ann Surg*, 1948; 127: 706-719.
- ²²¹ Meis JM, Enzinger FM. Juxta-articular myxoma: a clinical and pathologic study of 65 cases. *Hum Pathol*, 1992; 23(6):639-46.
- ²²² Allen PW, Allen LJ. Perce the permissive pathologist: a cautionary tale of one who misdiagnosed a pseudosarcoma, killed the patient and was found out. *Aust N Z J Surg*, 1994; 64(4):273-4.
- ²²³ Okamoto S, Hisaoka M, Meis-Kindblom JM, Kindblom LG, Hashimoto H. Juxta-articular myxoma and intramuscular myxoma are two distinct entities. Activating Gs alpha mutation at Arg 201 codon does not occur in juxta-articular myxoma. *Virchows Arch*, 2002; 440(1):12-5.

- ²²⁴ Sciort R, Dal Cin P, Samson I, van den Berghe H, Van Damme B. Clonal chromosomal changes in juxta-articular myxoma. *Virchows Arch*, 1999; 434(2):177-80.
- ²²⁵ Filipe MI, Mackenzie DH. Histochemical characteristics of muco-substances in three soft-tissue tumours. *J Pathol*, 1976; 118(1):17-9.
- ²²⁶ Kindblom LG, Angervall L. Histochemical characterization of mucosubstances in bone and soft tissue-tumors. *Cancer*, 1975; 36(3):985-94.
- ²²⁷ Lombardi T, Lock C, Samson J, Odell EW. S100, alpha-smooth muscle actin and cytokeratin 19 immunohistochemistry in odontogenic and soft tissue myxomas. *J Clin Pathol*, 1995; 48(8):759-62.
- ²²⁸ Miettinen M, Hockerstedt K, Reitamo J, Totterman S. Intramuscular myxoma--a clinicopathological study of twenty-three cases. *Am J Clin Pathol*, 1985; 84(3):265-72.
- ²²⁹ Orlandi A, Bianchi L, Marino B, Spagnoli LG, Nini G. Intramuscular myxoma of the face: an unusual localization. A clinicopathological study. *Dermatol Surg*, 1995; 21(3):251-4.
- ²³⁰ Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Daimaru Y, Enjoji M, Shinohara N. Intramuscular myxoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and electron microscopic study. *Cancer*, 1986; 58(3):740-7.
- ²³¹ Ohno T, Park P, Akai M, Kamura S, Murase K, Kimura H, Kadoya H, Manabe S, Nagao K, Sugano I. Ultrastructural study of a perineurioma. *Ultrastruct Pathol*, 1988; 12(5):495-504.
- ²³² Steeper TA, Rosai J. Aggressive angiomyxoma of the female pelvis and perineum. Report of nine cases of a distinctive type of gynecologic soft-tissue neoplasm. *Am J Surg Pathol*, 1983; 7(5):463-75.
- ²³³ Fetsch JF, Laskin WB, Lefkowitz M, Kindblom LG, Meis-Kindblom JM. Aggressive angiomyxoma: A clinicopathologic study of 29 female patients. *Cancer*, 1996; 78: 79-90.
- ²³⁴ Havel G, Burian P, Kohrtz M, Mark J. Aggressive angiomyxoma of the vulva: An unusual, deceptive and recurrence-prone tumour with evidence of estrogen receptor expression. *APMIS*, 1994; 102: 236-240.

- ²³⁵ Skálová A, Michal M, Husek K, Zámecník M, Leivo I. Aggressive angiomyxoma of the pelvioperineal region. *Am J Dermatol Pathol*, 1993; 15(5): 446-451.
- ²³⁶ Martínez MA, Ballestín C, Carabias E, González-Lois C. Aggressive angiomyxoma: an ultrastructural study of four casos. *Ultrastructural Pathology*, 2003; 27: 227-233.
- ²³⁷ Murphy CM, Grau-Massanes M, Sanchez RL. Multiple cutaneous myxomas. Report of a case without other elements of Carney's complex. *J Cutan Pathol*, 1995; 22(6):556-62.
- ²³⁸ Allen PW, Dymock RB, MacCormac LB. Superficial angiomyxomas with and without epithelial components. *Am J Surg Pathol*, 1988; 12(7): 519-530.
- ²³⁹ Cerdán J, Torres-Melero J, Martínez S, Arias J, Sanz-Esponera J, Balibrea JL. Aggressive angiomyxoma of the pelvis and perineum. *Eur J Surg* 1995; 161: 851-853.
- ²⁴⁰ Rubin BP, Stenman G. Ossifying fibromyxoid tumour. Pg.: 196-197. In: Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon, 2002.
- ²⁴¹ H Thomas Aretz. Chapter 29: The heart. Pg.: 1238-1240, in: Stephen S Sternberg.(ed). *Diagnostic Surgical Pathology* (vol. 1). 3rd edition. ed: Lippincott Williams& Wilkins.
- ²⁴² Diflo T, Cantelmo NL, Haudenschild CC, Watkins MT. Atrial myxoma with remote metastasis: case report and review of the literature. *Surgery*, 1992; 111(3):352-6.
- ²⁴³ Bell DA, Greco MA. Cardiac myxoma with chondroid features: a light and electron microscopic study. *Hum Pathol*, 1981; 12(4):370-4.
- ²⁴⁴ Zhang PF, Jones JW, Anderson WR. Cardiac myxomas correlative study by light, transmission, and scanning electron microscopy. *Am J Cardiovasc Pathol*, 1989; 2(4):295-300.
- ²⁴⁵ Chopra P. Intracardiac myxoma. *Jpn Heart J*, 1985; 26(3):457-62.
- ²⁴⁶ Govoni E, Severi B, Cenacchi G, Laschi R, Pileri S, Rivano MT, Alampi G, Branzi A. Ultrastructural and immunohistochemical contribution to the histogenesis of human cardiac myxoma. *Ultrastruct Pathol*, 1988; 12(2):221-33.
- ²⁴⁷ Chopra P, Sharma VK. Left atrial myxoma. An ultrastructural study. *Jpn Heart J*, 1983; 24(4):571-80.

- ²⁴⁸ Valente M. Structural profile of cardiac myxoma. *Appl Pathol*, 1983; 1(5):251-63.
- ²⁴⁹ Feldman PS, Horvath E, Kovacs K. An ultrastructural study of seven cardiac myxomas. *Cancer*, 1977; 40(5):2216-32.
- ²⁵⁰ Smith P, Heath D. Electron microscopy of the plexiform lesion. *Thorax*, 1979; 34(2):177-86.
- ²⁵¹ Fishbein MC, Ferrans VJ, Roberts WC. Endocardial papillary elastofibromas. Histologic, histochemical, and electron microscopical findings. *Arch Pathol*, 1975; 99(6):335-41.
- ²⁵² Chan YF, Yeung HY, Ma L. Myxoma of the breast: report of a case and ultrastructural study. *Pathology*, 1986; 18(1):153-7.
- ²⁵³ Takagi M. Ultrastructural and immunohistochemical characteristics of cardiac myxoma. *Acta Pathol Jpn*, 1984; 34(5):1099-114.
- ²⁵⁴ Wold LE, Lie JT. Scanning electron microscopy of intracardiac myxoma. *Mayo Clin Proc*, 1981; 56(3):198-200.
- ²⁵⁵ Lam RM, Hawkins ET, Roszka J. Cardiac myxoma: histochemical and ultrastructural localization of glycosaminoglycans and proteoglycans. *Ultrastruct Pathol*, 1984; 6(1):69-81.
- ²⁵⁶ Powell HC, Weissinger J. Intracysternal crystalline cytoplasmic inclusions in a cardiac myxoma. *Am J Cardiovasc Pathol*, 1987; 1(1):135-40.
- ²⁵⁷ Desal U, Ramos CV, Taylor HB. Ultrastructural observations in pleomorphic liposarcoma. *Cancer*, 1978; 42(3):1284-90.
- ²⁵⁸ Antonescu CR, Argani P, Erlandson RA, Healy JH, Ladanyi M, Huvos AG. Skeletal and extraskeletal myxoid chondrosarcoma: a comparative clinicopathologic, ultrastructural and molecular study. *Cancer*, 1998; 83(8): 1504-1521.
- ²⁵⁹ Povysil C, Matejovsky. A comparative study of chondrosarcoma, chordoid sarcoma, chordoma and chordoma periphericum. *Path Res Pract*, 1985; 179:546-559.
- ²⁶⁰ Enzinger FM, Shiraki M. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma. An analysis of 34 cases. *Hum Pathol*, 1972; 3: 421-435.
- ²⁶¹ Hachitanda Y, Tsuneyoshi M, Daimaru Y, Enjoji M, Nakagawara A, Ikeda K, Sueishi K. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma in young children. *Cancer*, 1988; 61(12):2521-6.

- ²⁶² Meis-Kindblom JM, Bergh P, Gunterberg B, Kindblom LG. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma: a reappraisal of its morphologic spectrum and prognostic factors based on 117 cases. *Am J Surg Pathol* 1999; 23:636-650.
- ²⁶³ Tseleni-Balafouta S, Arvanitis D, Kakaviatos N, Paraskevskou H. Primary myxoid chondrosarcoma of the thyroid gland. *Arch Pathol Lab Med*, 1988; 112(1):94-6.
- ²⁶⁴ Abramovici LC, Steiner GC, Bonar F. Myxoid chondrosarcoma of soft tissue and bone: a retrospective study of 11 cases. *Hum Pathol*, 1995; 26(11):1215-20.
- ²⁶⁵ Goetz SP, Robinson RA, Landas SK. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma of the pleura. Report of a case clinically simulating mesothelioma. *Am J Clin Pathol*, 1992; 97(4):498-502.
- ²⁶⁶ Lucas DR, Fletcher CD, Adsay NV, Zalupski MM. High-grade extraskeletal myxoid chondrosarcoma: a high-grade epithelioid malignancy. *Histopathology*, 1999; 35:201-208.
- ²⁶⁷ Lucas DR, Helm S. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma. Pg.: 213-215. In: Fletcher CDM, Unni DD, Mertens F. (Eds): *World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics of tumours of soft tissue and bone*. IARC Press: Lyon 2002.
- ²⁶⁸ Bjerkehagen B, Dietrich C, Reed W, Micci F, Saeter G, Berner A, Nesland JM, Heim S. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma: multimodal diagnosis and identification of a new cytogenetic subgroup characterized by t(9;17)(q22;q11). *Virchows Arch*, 1999; 435(5):524-30.
- ²⁶⁹ Orndal C, Carlen B, Akerman M, Willen H, Mandahl N, Heim S, Rydholm A, Mitelman F. Chromosomal abnormality t(9;22)(q22;q12) in an extraskeletal myxoid chondrosarcoma characterized by fine needle aspiration cytology, electron microscopy, immunohistochemistry and DNA flow cytometry. *Cytopathology*, 1991; 2(5):261-70.
- ²⁷⁰ Martinez-Tello FJ, Martínez González MA. The ultrastructure of the cartilaginous tumours . In Bonecci E, Motta PM (eds). *Ultrastructure of skeletal tissue*. Chapter 10, pgs 189-207. Kluwer Academic Publishers. Boston, 1990.
- ²⁷¹ Martinez-Tello FJ Navas Palacios JJ: Ultrastructural study of conventional chondrosarcoma and myxoid and mesenchymal chondrosarcoma. *Virchows Arch [A]*, 1982; 396:197-211.

- ²⁷² Cameron CH, Kenny BD, Clements WD, Toner PG. Unusual extraskeletal myxoid chondrosarcoma. *Ultrastruct Pathol*, 1992; 16(1-2):17-23.
- ²⁷³ Sato K, Kubota T, Yoshida K, Murata H. Intracranial extraskeletal myxoid chondrosarcoma with special reference to lamellar inclusions in the rough endoplasmic reticulum. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1993; 86(5):525-8.
- ²⁷⁴ Bender BL, Barnes L, Yunis EJ. Intraosseous "chordoid" sarcoma, chondroblastic or lipoblastic origin? *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*, 1980; 387(2):241-9.
- ²⁷⁵ Erlandson RA, Huvos G. Chondrosarcoma: A light and electron microscopic study . *Cancer*, 1974; 34:1642-1652.
- ²⁷⁶ Weiss C, Rosenberg L, Helfet AJ. An ultrastructural study of normal young adult human cartilage. *J Bone Joint Surgery*, 1968; 50A:663.
- ²⁷⁷ Ghadially. *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. 4th edition. Chapter 5. Pgs: 514-519. Butterworth-Heinemann. Boston, 1997.
- ²⁷⁸ Fu YS, Kay S. A comparative ultrastructural study of mesenchymal chondrosarcoma and myxoid chondrosarcoma. *Cancer*, 1974; 33(6):1531-42.
- ²⁷⁹ Dabska M: Parachordoma: a new clinicopathologic entity. *Cancer*, 1977; 40:1586-1592.
- ²⁸⁰ Folpe AL, Agoff SN, Willis J, Weiss SW. Parachordoma is immunohistochemically and cytogenetically distinct from axial chordoma and extraskeletal myxoid chondrosarcoma. *Am J Surg Pathol*, 1999; 23(9):1059-1067.
- ²⁸¹ Tihy F, Scott P, Russo P, Champagne M, Tabet JC, Lemieux N. Cytogenetic analysis of a parachordoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 1998; 105(1):14-9.
- ²⁸² Robertson DI, Hogg GR. Chordoid sarcoma: ultrastructural evidence supporting a synovial origin. *Cancer*, 1980; 45(3):520-7.
- ²⁸³ Cooney TP, Hwang WS, Robertson DI, Hoogstraten J. Monophasic synovial sarcoma, epithelioid sarcoma and chordoid sarcoma: ultrastructural evidence for a common histogenesis, despite light microscopic diversity. *Histopathology*, 1982; 6(2):163-90.

- ²⁸⁴ Weiss SW. Ultrastructure of the so-called "chordoid sarcoma". Evidence supporting cartilagenous differentiation. *Cancer*, 1976; 37(1):300-6.
- ²⁸⁵ Sanguenza OP, White CR. Parachordoma. *Am J Dermatopathol*, 1994; 16:185-188.
- ²⁸⁶ Carsten HB. Chordoid tumor: A light, electron microscopic and immunohistochemical study. *Ultrastruct Pathol*, 1995; 19:291-295.
- ²⁸⁷ Shin HJC, Mackay B, Ichinose H, Ayala AG, Romsdahl MM. Parachordoma *Ultrastruct Pathol*, 1994; 18:249-256.
- ²⁸⁸ Ishida T, Oda H, Oka T, Imamura T, Machinami R. Parachordoma: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1993; 422(3):239-45.
- ²⁸⁹ Fisher C. Parachordoma exist-but what is it? *Adv Anat Pathol*, 2000; 7:141-148.
- ²⁹⁰ Carstens PH. Chordoid tumor: a light, electron microscopic, and immunohistochemical study. *Ultrastruct Pathol*, 1995; 19(4):291-5.
- ²⁹¹ Miettinen M, Gannon FH, Lackman R. Chordomalike soft tissue sarcoma in the leg: a light and electron microscopic and immunohistochemical study. *Ultrastruct Pathol*, 1992; 16(5):577-86.
- ²⁹² Mehio AR, Ferenczy A. Extraskkeletal myxoid chondrosarcoma with "chordoid" features (chordoid sarcoma). *Am J Clin Pathol*, 1978; 70:700-705.
- ²⁹³ Wick MR, Burgess JH, Manivel JC. A reassessment of "chordoid sarcoma". Ultrastructural and immunohistochemical comparison with chordoma and skeletal myxoid chondrosarcoma. *Mod Pathol*, 1988; 1:433-443.
- ²⁹⁴ Wiebe BM, Jensen K, Laursen H. Parachordoma of the sacrococcygeal region- a neuroepithelial tumor. *Clinical neuropathol*, 1995; 14:343-346.
- ²⁹⁵ Pardo-Mindan FJ, Guillen FJ, Villas C, Vazquez JJ. A comparative ultrastructural study of chondrosarcoma, chordoid sarcoma, and chordoma. *Cancer*, 1981; 47(11):2611-9.
- ²⁹⁶ Stephen S Sternberg.(ed). *Diagnostic Surgical Pathology* (vol. 1). 3rd edition. ed: Lippincott Williams& Wilkins.

- ²⁹⁷ Wold LE, Laws ER Jr. Cranial chordomas in children and young adults. *J Neurosurg*, 1983; 59: 1043- 1047.
- ²⁹⁸ Sibley RK, Day DL, Dehner LP, Trueworthy RC. Metastasizing chordoma in early childhood: a pathological and immunohistochemical study with review of the literature. *Pediatr Pathol*, 1987; 7: 287-301.
- ²⁹⁹ Heffelfinger MJ, Dahlin DC, MacCarty CS, Beabout JW. Chordomas and cartilaginous tumors at the skull base. *Cancer*, 1973; 32: 410-420.
- ³⁰⁰ Mierau GW, Weeks DA. Chondroid chordoma. *Ultrastruct Pathol*, 1987;11(5-6):731-7.
- ³⁰¹ Moriki T, Takahashi T, Wada M, Ueda S, Ichien M, Miyazaki E. Chondroid chordoma: fine-needle aspiration cytology with histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of two cases. *Diagn Cytopathol*, 1999; 21(5):335-9.
- ³⁰² Miettinen M, Lehto VP, Virtanen I. Malignant fibrous histiocytoma within a recurrent chordoma. A light microscopic, electron microscopic, and immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*, 1984; 82(6):738-43.
- ³⁰³ Valderrama E, Kahn LB, Lipper S, Marc J. Chondroid chordoma. Electron-microscopic study of two cases. *Am J Surg Pathol*, 1983; 7(7):625-32.
- ³⁰⁴ Hruban RH, Traganos F, Reuter VE, Huvos AG. Chordomas with malignant spindle cell components. A DNA flow cytometric and immunohistochemical study with histogenetic implications. *Am J Pathol*, 1990; 137(2):435-47.
- ³⁰⁵ Miettinen M, Lehto VP, Dahl D, Virtanen I. Differential diagnosis of chordoma, chondroid, and ependymal tumors as aided by anti-intermediate filament antibodies. *Am J Pathol*, 1983; 112(2):160-9.
- ³⁰⁶ Sweet MB, Thonar EJ, Berson SD, Skikne MI, Immelman AR, Kerr WA. Biochemical studies of the matrix of craniovertebral chordoma and a metastasis. *Cancer*, 1979; 44(2):652-60.
- ³⁰⁷ Suster S, Moran CA. Chordomas of the mediastinum: clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of six cases presenting as posterior mediastinal masses. *Hum Pathol*, 1995; 26(12):1354-62.

- ³⁰⁸ Brooks JJ, LiVolsi VA, Trojanowski HQ. Does chondroid chordoma exist (abstract)? *Lab Invest*, 1986; 54: 8^a.
- ³⁰⁹ Rosenberg AE, Brown GA, Bhan AK, Lee JM. Chondroid Chordoma – a variant of chordoma. A morphologic and immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*, 1994; 101: 36-41.
- ³¹⁰ Salisbury JR. Demonstration of cytokeratins and an epithelial membrane antigen in chondroid chordoma. *J Pathol*, 1987; 153: 37-40.
- ³¹¹ Niwa J, Hashi K, Minase T. Immunohistochemical and electron microscopic studies on intracranial chordomas: difference between typical chordomas and chondroid chordomas. *Noshuyo Byori*, 1994;11(1):15-21.
- ³¹² Rutherford GS, Davies AG. Chordomas--ultrastructure and immunohistochemistry: a report based on the examination of six cases. *Histopathology*, 1987; 11(8):775-87.
- ³¹³ Kubota T, Sato K, Kabuto M, Kawano H, Nakagawa T, Arai Y, Tachibana O, Yoshida K, Yamashita J. Immunohistochemical and ultrastructural study of skull base chordomas. *Noshuyo Byori*, 1994;11(1):23-8.
- ³¹⁴ Hu B, McPhaul L, Cornford M, Gaal K, Mirra J, French SW. Expression of tau proteins and tubulin in extraskeletal myxoid chondrosarcoma, chordoma, and other chondroid tumors. *Am J Clin Pathol*, 1999; 112(2):189-93.
- ³¹⁵ Scheil S, Bruderlein S, Liehr T, Starke H, Herms J, Schulte M, Moller P. Genome-wide analysis of sixteen chordomas by comparative genomic hybridization and cytogenetics of the first human chordoma cell line, U-CH1. *Genes Chromosomes Cancer*, 2001; 32(3):203-11.
- ³¹⁶ Buonamici L, Roncaroli F, Fioravanti A, Losi L, Van den Berghe H, Calbucci F, Dal Cin P. Cytogenetic investigation of chordomas of the skull. *Cancer Genet Cytogenet*, 1999; 112(1):49-52.
- ³¹⁷ Colli B, Al-Mefty O. Chordomas of the craniocervical junction: follow-up review and prognostic factors. *J Neurosurg*, 2001; 95(6):933-43.

- ³¹⁸ Kelley MJ, Korczak JF, Sheridan E, Yang X, Goldstein AM, Parry DM. Familial chordoma, a tumor of notochordal remnants, is linked to chromosome 7q33. *Am J Hum Genet*, 2001; 69(2):454-60.
- ³¹⁹ Miozzo M, Dalpra L, Riva P, Volonta M, Macciardi F, Pericotti S, Tibiletti MG, Cerati M, Rohde K, Larizza L, Fuhrman Conti AM. A tumor suppressor locus in familial and sporadic chordoma maps to 1p36. *Int J Cancer*, 2000; 87(1):68-72.
- ³²⁰ Eisenberg MB, Woloschak M, Sen C, Wolfe D. Loss of heterozygosity in the retinoblastoma tumor suppressor gene in skull base chordomas and chondrosarcomas. *Surg Neurol*, 1997; 47(2):156-60; discussion 160-1.
- ³²¹ Sirikulchayanonta V, Sriurairatna S. Ultrastructure of chordoma. A case report. *Acta Pathol Jpn*, 1985; 35(5):1233-9.
- ³²² Thiery JP, Mazabraud A, Mignot J, Durigon M. [Electronic microscopic study of a sacral chordoma. Characterization of various development stages of the tumor cells]. [Article in French]. *Ann Anat Pathol (Paris)*, 1977; 22(2):193-204.
- ³²³ Lagace R, Delage C. [Ultrastructure of a sacral chordoma]. [Article in French]. *Ann Anat Pathol (Paris)*, 1975; 20(5):479-88.
- ³²⁴ Fu YS, Pritchett PS. Tissue culture study of a sacrococcygeal chordoma with further ultrastructural study. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1975; 32(3):225-33.
- ³²⁵ Tripler MF, Hassoun J, Toga M. [Ultrastructural study of a chordoma]. [Article in French]. *J Neurol Sci*, 1975; 25(3):361-70.
- ³²⁶ Lam R. The nature of cytoplasmic vacuoles in chordoma cells. A correlative enzyme and electron microscopic histochemical study. *Pathol Res Pract*, 1990; 186(5):642-50.
- ³²⁷ Panattoni GL, Corvetti G, Sisto Daneo L. Relations between subcellular events in the degenerating notochord and histopathological features of the spinal chordomas. *Panminerva Med*, 1992; 34(4):155-9.

- ³²⁸ Miyauchi M, Maruyama K. [Morphological characteristics, especially the malignant features, of chordoma in comparison with the notochord].[abstract]. *Gan No Rinsho*, 1988; 34(9):1089-95.
- ³²⁹ Ho KL. Ecchordosis physaliphora and chordoma: a comparative ultrastructural study. *Clin Neuropathol*, 1985; 4(2):77-86.
- ³³⁰ Ulich TR, Mirra JM. Ecchordosis physaliphora vertebralis. *Clin Orthop*, 1982; (163):282-9.
- ³³¹ Scheithauer BW, Woodruff JM, Erlandson RA.(eds.). *Atlas of tumor pathology: Tumors of the peripheral nervous system. Third series, fascicle 24. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 1999.*
- ³³² Hirose T, Hasegawa T, Kudo E, Seki K, Sano T, Hizawa K. Malignant peripheral nerve sheath tumors: an immunohistochemical study in relation to ultrastructural features. *Hum Pathol*, 1992; 23(8):865-70.
- ³³³ Chitale AR, Murthy AK, Desai AP, Lalitha VS. Peripheral nerve sheath tumours: an ultrastructural study of 30 cases. *Indian J Cancer*, 1991; 28(1):1-8.
- ³³⁴ Dickersin GR. The electron microscopic spectrum of nerve sheath tumors. *Ultrastruct Pathol*, 1987; 11(2-3):103-46.
- ³³⁵ Lallas TA, Mehaffey PC, Lager DJ, Van Voorhis BJ, Sorosky JI. Malignant cervical schwannoma: An unusual pelvic tumor. *Gynecol Oncol*, 1999; 72(2):238-42.
- ³³⁶ Andrion A, Bellis D, Delsedime L, Bussolati G, Mazzucco G. Leiomyoma and neurilemoma: report of two unusual non-epithelial tumours of the thyroid gland. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1988; 413(4):367-72.
- ³³⁷ Bunge MB, Wood PM, Tynan LB, Bates ML, Sanes JR. Perineurium originates from fibroblasts: demonstration in vitro with a retroviral marker. *Science*, 1989; 243(4888):229-31.
- ³³⁸ Salmon I, Kiss R, Segers V, Carroyer JM, Levivier M, Pasteels JL, Brotschi J, Flament-Durand J. Characterization of nuclear size, ploidy, DNA histogram type and proliferation index in 79 nerve sheath tumors. *Anticancer Res*, 1992; 12(6B):2277-83.

- ³³⁹ Emery E, Li X, Brunschwig JP, Olson L, Levi AD. Assessment of the malignant potential of mitogen stimulated human Schwann cells. *J Peripher Nerv Syst*, 1999; 4(2):107-16.
- ³⁴⁰ Sanguinetti C, Greco F, De Palma L, Specchia N, Toesca A, Nori S. The ultrastructure of peripheral neurofibroma: the role of mast cells and their interaction with perineurial cells. *Ital J Orthop Traumatol*, 1992; 18(2):207-16.
- ³⁴¹ Hassan MO, Gogate PA. Ribosome-lamella complexes in the perineurial cells of neurofibromatosis. *Ultrastruct Pathol*, 1996; 20(2):173-78.
- ³⁴² Pasquier B, Barnoud R, Peoc'h M, Pinel N, Bost F, Le Marc'hadour F, Pasquier D. [Neurothekeoma. General review apropos of an anatomoclinical case with immunohistochemical and ultrastructural study]. [Article in French]. *Arch Anat Cytol Pathol*, 1994; 42(3-4):133-40.
- ³⁴³ Calonje E, Wilson-Jones E, Smith NP, Fletcher CD. Cellular neurothekeoma: an epithelioid variant of pilar leiomyoma? Morphological and immunohistochemical analysis of a series. *Histopathology*, 1992; 20:397-404.
- ³⁴⁴ Argenyi ZB, Kutzner H, Seaba MM. Ultrastructural spectrum of cutaneous nerve sheath myxoma/cellular neurothekeoma. *J Cutan Pathol*, 1995; 22: 137-45.
- ³⁴⁵ Argenyi ZB, LeBoit PE, Santa Cruz D, Swanson PE, Kutzner H. Nerve sheath myxoma (neurothekeoma) of the skin: light microscopic and immunohistochemical reappraisal of the cellular variant. *J Cutan Pathol*, 1993; 20:294-303.
- ³⁴⁶ Barnhill RL, Dickersin GR, Nickeliet V, et al. Studies on the cellular origin of neurothekeoma: clinical, light microscopic, immunohistochemical and ultrastructural observations. *J Am Acad Dermatol*, 1991; 25: 80-8.
- ³⁴⁷ Ordonez NG, Tornos C. Malignant peripheral nerve sheath tumor of the pleura with epithelial and rhabdomyoblastic differentiation: report of a case clinically simulating mesothelioma. *Am J Surg Pathol*, 1997; 21(12):1515-21.
- ³⁴⁸ J Misago N, Ishii Y, Kohda H. Malignant peripheral nerve sheath tumor of the skin: a superficial form of this tumor. *Cutan Pathol*, 1996; 23(2):182-8.

- ³⁴⁹ Punjabi AP, Haug RH, Chung-Park MJ, Likavek M. Malignant peripheral nerve sheath tumor of the parotid gland: report of case. *J Oral Maxillofac Surg*, 1996; 54(6):765-9.
- ³⁵⁰ McCluggage WG, Bharucha H. Primary pulmonary tumours of nerve sheath origin. *Histopathology*, 1995; 26(3):247-54.
- ³⁵¹ Kitamura H, Kitamura H. Primary epithelioid malignant schwannoma of the lung. *Pathol Int*, 1994; 44(4):317-24.
- ³⁵² Morgan MB, Stevens L, Patterson J, Tannenbaum M. Cutaneous epithelioid malignant nerve sheath tumor with rhabdoid features: a histologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of three cases. *J Cutan Pathol*, 2000; 27(10):529-34.
- ³⁵³ Hruban RH, Shiu MH, Senie RT, Woodruff JM. Malignant peripheral nerve sheath tumors of the buttock and lower extremity. A study of 43 cases. *Cancer*, 1990; 66(6):1253-65.
- ³⁵⁴ Takeuchi A, Ushigome S. Diverse differentiation in malignant peripheral nerve sheath tumours associated with neurofibromatosis-1: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Histopathology*, 2001; 39(3):298-309.
- ³⁵⁵ Zamecnik M, Michal M. Malignant peripheral nerve sheath tumor with perineurial cell differentiation (malignant perineurioma). *Pathol Int*, 1999; 49(1):69-73.
- ³⁵⁶ Hirose T, Scheithauer BW, Sano T. Perineurial malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST): a clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of seven cases. *Am J Surg Pathol*, 1998; 22(11):1368-78.
- ³⁵⁷ Hanson IM, Pearson JM, Eyden BP, Slawik S, Harris M. Evidence of nerve sheath differentiation and high grade morphology in sclerosing epithelioid fibrosarcoma. *J Clin Pathol*, 2001; 54(9):721-3.
- ³⁵⁸ Horie Y, Fujita H, Mizobuchi K, Hoshida Y, Murakami I, Taguchi K, Akagi T. Malignant peripheral nerve sheath tumor with prominent intracytoplasmic vacuolation: report of a case. *Pathol Int*, 1994; 44(12):865-73.
- ³⁵⁹ Goodlad JR, Fletcher CD. Malignant peripheral nerve sheath tumour with annulate lamellae mimicking pleomorphic malignant fibrous histiocytoma. *J Pathol*, 1991; 164(1):23-9.

- ³⁶⁰ de Jong KP, Vuzevski VD, Eggermont AM, Jeekel J. Solitary malignant Schwannoma: clinical aspects, immunohistochemistry and ultrastructure. *Eur J Surg Oncol*, 1990; 16(3):229-36.
- ³⁶¹ Goldstein J, Lifshitz T. Myxoma of the nerve sheath. Report of three cases, observations by light and electron microscopy and histochemical analysis. *Am J Dermatopathol*, 1985; 7(5):423-9.
- ³⁶² Fisher C, Carter RL, Ramachandra S, Thomas DM. Peripheral nerve sheath differentiation in malignant soft tissue tumours: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Histopathology*, 1992; 20(2):115-25.
- ³⁶³ Chitale AR, Dickersin GR. Electron microscopy in the diagnosis of malignant schwannomas. A report of six cases. *Cancer*, 1983; 51(8):1448-61.
- ³⁶⁴ Schmidt U, Donhuijsen K, Metz KA, Leder LD. Variability of differentiation patterns in xenotransplanted spindle cell sarcomas: a histomorphological, immunohistochemical, and ultrastructural study. *Ultrastruct Pathol*, 1996; 20(2):131-40.
- ³⁶⁵ Schmidt U, Stuben G, Stuschke M, Donhuijsen K. Ultrastructural evidence for divergent and alternating differentiations in spindle cell sarcoma xenografts. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1997; 29(2):187-95.
- ³⁶⁶ Sakaguchi N, Sano K, Ito M, Baba T, Fukuzawa M, Hotchi M. A case of von Recklinghausen's disease with bilateral pheochromocytoma-malignant peripheral nerve sheath tumors of the adrenal and gastrointestinal autonomic nerve tumors. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20(7):889-97.
- ³⁶⁷ Le Cam-Savin C, Gontier MF, Martin A, Sevestre H, Cordonnier C, Smadja A. [Spinal melanocytic schwannoma with malignant course. Microscopic and ultrastructural study of a case]. [Article in French]. *Arch Anat Cytol Pathol*, 1995; 43(3):160-3.
- ³⁶⁸ Suster S, Sorace D, Moran CA. Gastrointestinal stromal tumors with prominent myxoid matrix. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of nine cases of a

distinctive morphologic variant of myogenic stromal tumor. *Am J Surg Pathol* ,1995; 19(1):59-70.

³⁶⁹ Webb JN. The ultrastructure of a melanotic schwannoma of the skin. *J Pathol*, 1982; 137(1):25-36.

³⁷⁰ Mennemeyer RP, Hallman KO, Hammar SP, Raisis JE, Tytus JS, Bockus D. Melanotic schwannoma. Clinical and ultrastructural studies of three cases with evidence of intracellular melanin synthesis. *Am J Surg Pathol*, 1979; 3(1):3-10.

³⁷¹ Domanski HA, Carlen B, Mertens F, Akerman M. Extraskelatal myxoid chondrosarcoma with neuroendocrine differentiation: A case report with fine-needle aspiration biopsy, histopathology, electron microscopy and cytogenetics. *Ultrastructural Pathology*, 2003; 27: 363-368.

³⁷² Capítulo 4: Disco germinativo trilaminar, pags. 55-63, en *Embriología Médica de Langman*. 4ª ed. Editorial médica panamericana SA, 1981, México.

³⁷³ Ryden M, Dicker A, Gotherstrom C, Astrom G, Tammik C, Arner P, Le Blanc K. Functional characterization of human mesenchymal stem cell-derived adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Nov 14;311(2):391-7.

³⁷⁴ Toriyama K, Kawaguchi N, Kitoh J, Tajima R, Inou K, Kitagawa Y, Torii S. Endogenous adipocyte precursor cells for regenerative soft-tissue engineering. *Tissue Eng*. 2002 Feb;8(1):157-65.

³⁷⁵ Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, Hirose I, Kitamura T, Tsuji K. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *Stem Cells*. 2004;22(5):649-58.

³⁷⁶ Zhang Y, Li C, Jiang X, Zhang S, Wu Y, Liu B, Tang P, Mao N. Human placenta-derived mesenchymal progenitor cells support culture expansion of long-term culture-initiating cells from cord blood CD34+ cells. *Exp Hematol*. 2004 Jul;32(7):657-64.

³⁷⁷ Schürch W, Seemayer TA, Gabbiani G. Myofibroblast, in: *Histology for pathologists* ed by Stephen S Sternberg. Chap. 7, pag: 129-166. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, 1997.

- ³⁷⁸ Kim JW, Kim SY, Park SY, Kim YM, Kim JM, Lee MH, Ryu HM. Mesenchymal progenitor cells in the human umbilical cord. *Ann Hematol.* 2004 Sep 15 (pendiente de publicación)
- ³⁷⁹ Fu YS, Shih YT, Cheng YC, Min MY. Transformation of human umbilical mesenchymal cells into neurons in vitro. *J Biomed Sci.* 2004 Sep-Oct;11(5):652-60.
- ³⁸⁰ Parsons CH, Szomju B, Kedes DH. Susceptibility of human fetal mesenchymal stem cells to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Blood.* 2004 Jul 6 (pendiente de publicación)
- ³⁸¹ Fukunaga M. Perivascular epithelioid cell tumor (PEComa) of soft tissue: case report with ultrastructural study. *APMIS*, 2004; 112(2):98-104.
- ³⁸² Tazelaar HD, Batts KP, Srigley JR. Primary extrapulmonary sugar tumor (PEST): a report of four cases. *Mod Pathol*, 2001; 14(6):615-22.
- ³⁸³ Tejido conjuntivo, pag. 179 en D.W. Fawcett: *Tratado de Histología*. Ed. Bloom-Fawcett 12^a ed. McGrawHill interamericana, Madrid, 1995.
- ³⁸⁴ Sobel HJ, Marquet E, Sobrinho-Simoes M, Johannessen JV. 3.2: Origin of soft tissue tumors from undifferentiated cells. In: *Electron Microscopy in Human Medicine* vol. 4: Soft tissue, bones and joints. Ed.: Jan Vincents Johannessen, McGraw-Hill Inc. Great Britain, 1981.
- ³⁸⁵ Huss R, Moosmann S. The co-expression of CD117 (c-kit) and osteocalcin in activated bone marrow stem cells in different diseases. *Br J Haematol.* 2002 Jul;118(1):305-12.
- ³⁸⁶ Akino K, Mineta T, Fukui M, Fujii T, Akita S. Bone morphogenetic protein-2 regulates proliferation of human mesenchymal stem cells. *Wound Repair Regen.* 2003 Sep-Oct;11(5):354-60.
- ³⁸⁷ Pierantoni GM, Battista S, Pentimalli F, Fedele M, Visone R, Federico A, Santoro M, Viglietto G, Fusco A. A truncated HMGA1 gene induces proliferation of the 3T3-L1 pre-adipocytic cells: a model of human lipomas. *Carcinogenesis.* 2003 Dec;24(12):1861-9. Epub 2003 Sep 11.
- ³⁸⁸ Xu W, Qian H, Zhu W, Chen Y, Shao Q, Sun X, Hu J, Han C, Zhang X. A novel tumor cell line cloned from mutated human embryonic bone marrow mesenchymal stem cells. *Oncol Rep.* 2004 Sep;12(3):501-8.

³⁸⁹Serakinci N, Guldberg P, Burns JS, Abdallah B, Schrodder H, Jensen T, Kassem M. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation. *Oncogene*. 2004 Jun 24;23(29):5095-8. Comment in: *Oncogene*. 2004 Jun 24;23(29):5092-4.

³⁹⁰Keith WN. From stem cells to cancer: balancing immortality and neoplasia. *Oncogene*. 2004 Jun 24;23(29):5092-4. Comment on: *Oncogene*. 2004 Jun 24;23(29):5095-8.

ANEXO 1: GLICOSAMINGLICANOS

GLICOSAMINGLICANOS:

La textura y consistencia de los tejidos en general, depende fundamentalmente de la interacción entre el componente celular y la matriz extracelular. Ésta está compuesta por una gran variedad de macromoléculas producidas localmente por las células y organizadas en una red que confiere y determina las propiedades físicas de los tejidos.

Los dos tipos principales de macromoléculas en la matriz extracelular son los polisacáridos glicosaminglicanos y las proteínas estructurales y de adhesión. Los glicosaminglicanos están constituidos por unidades repetitivas de disacáridos con intensa carga negativa (acidófilos) debido a la presencia de grupos sulfato o carboxilo que a veces se encuentran a su vez ligados a proteínas (glicoproteínas).

Los glicosaminglicanos sulfatados son el condroitín sulfato, el heparán sulfato, el queratán sulfato y el dermatán sulfato. El ácido hialurónico es un glicosaminglicano no sulfatado.

Cuando los glicosaminglicanos se encuentran en gran cantidad en la matriz extracelular, confieren al tejido un aspecto de gel (“gelatinoso”) por su carácter intensamente hidrofílico. Son por tanto el componente predominante de la matriz extracelular de los tumores de los que vamos a tratar, que presentan este aspecto macroscópico de forma característica. A continuación analizaremos las características principales de estos compuestos, tanto bioquímicas como tintoriales y sus funciones en los tejidos que, como veremos, no son simplemente de sostén.

Las mucosustancias predominantes en los tejidos blandos son el ácido hialurónico, el condroitín sulfato y el queratán sulfato. Todos ellos se tiñen con azul alcian y no todos o muy débilmente algunos de ellos, lo hacen con la técnica del ácido periódico de Schiff (PAS). La predigestión con hialuronidasa testicular negativiza la tinción con azul alcian de los glicosaminglicanos no sulfatados (ácido hialurónico) sin variar sustancialmente la de los sulfatados (condroitín sulfato y queratán sulfato)¹.

Los glicosaminglicanos de la matriz extracelular no tienen únicamente una función estructural, de sostén de estructuras epiteliales y no son, ni muchísimo menos, elementos estáticos y constantes que únicamente “están” entre los parénquimas.

Por el contrario, recientemente se ha demostrado que los glicosaminglicanos y polisacáridos están implicados en la interacción entre mesénquima y epitelio, así como en la diferenciación celular, además de proporcionar un ambiente adecuado para el intercambio celular².

En concreto, la expresión del gen WT1 determina la composición de distintos glicosaminglicanos. Se ha demostrado además que esta composición determina o, en cierta medida, influye en la diferenciación celular hacia epitelio o hacia mesénquima. Este hecho se ha observado en cultivos de células mesoteliales y en adenomas pleomorfos cuya heterogeneidad se debe a la estromalización del epitelio³.

La interacción entre células y matriz extracelular se produce también en dirección contraria por medio de factores de crecimiento liberados por las células, de forma que, por ejemplo, los fibroblastos cutáneos embrionarios

liberan TGF-alfa y beta que estimulan la síntesis y secreción de glicosaminglicanos⁴.

En concreto, se ha estudiado mejor el modelo del ácido hialurónico⁵, cuál es su localización extra e intracelular y su interacción con las células. Se ha observado que se encuentra en la matriz extracelular de la mayor parte de los tejidos no neoplásicos, en los que se piensa que favorece la migración y la proliferación celular. Mediante técnicas de histoquímica, se ha observado que la formación de la matriz pericelular dependiente de hialuronato es un proceso inmediato a la separación de las células en la mitosis. Se ha observado también, que el ácido hialurónico se encuentra intracelularmente distribuido de forma difusa, en vesículas en el citoplasma, en relación con el nucleolo y en las hendiduras nucleares. Su distribución varía dependiendo de si la célula se activa para la proliferación (aumenta el contenido de ácido hialurónico, se hace masivo y difuso tanto en citoplasma como en el núcleo) o si se trata de células inactivas (aparece sólo en pequeñas vesículas intracitoplásmicas y en la región perinucleolar en el núcleo). Por ello, estos autores sugieren que tiene un origen intracelular y que interviene en la proliferación en relación con la función nucleolar y la distribución de los cromosomas.

El ácido hialurónico también influye en la expresión de actina muscular lisa-alfa celular en fibroblastos sobre la que tiene un efecto inhibitorio por lo que podría tener efectos antifibróticos⁶.

¹ Graadt van Roggen JF, Hogendoorn PC, Fletcher CD. Myxoid tumours of soft tissue. *Histopathology*, 1999; 35(4): 291-312.

-
- ² Stabellini G, Del Borrello E, De Mattei M, Calastrini C, Orsini LF, Franchina M. Glycosaminoglycan analysis in amniotic fluid and in cultured fibroblasts from normal and holoprosencephalic human embryonic organs. *Prenat Diagn*, 1997; 17(11): 1077-80.
- ³ Gulyas M, Dobra K, Hjerpe A. Expression of genes coding for proteoglycans and Wilms' tumour susceptibility gene 1 (WT1) by variously differentiated benign human mesothelial cells. *Differentiation*, 1999; 65(2): 89-96.
- ⁴ Locci P, Lilli C, Marinucci L, Baroni T, Pezzetti F, Becchetti E. Embryonic skin fibroblasts release TGF alpha and TGF beta able to influence synthesis and secretion of GAG. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 1993; 39(4): 415-426.
- ⁵ Evanko SP, Wight TN. Intracellular localization of hyaluronan in proliferating cells. *J Histochem Cytochem*, 1999; 47(10): 1331-1342.
- ⁶ Andreuti D, Geinoz A, Gabbiani G. Effect of hyaluronic acid on migration, proliferation and alpha-smooth muscle actin expression by culture rat and human fibroblasts. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1999; 31(2): 173-177.

ANEXO 2: ARTÍCULO

Aggressive Angiomyxoma: An Ultrastructural Study of Four Cases

Miguel A. Martínez, MD, PhD
Claudio Ballestín, MD, PhD

*Departamento de Anatomía Patológica,
Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain*

Esperanza Carabias, MD

*Servicio de Anatomía Patológica,
Hospital Virgen de la Salud, Toledo, Spain*

Carmen González Lois, MD

*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Sta. Cristina,
Madrid, Spain*

The histogenesis of the aggressive angiomyxoma of the vulvo-vaginal region was studied. Four cases of aggressive angiomyxoma were examined by using light microscopy, electron microscopy, and immunohistochemistry. Myofibroblastic from smooth muscle cell differentiation was distinguished by paying close attention to the structures of the neoplastic cell membrane. Aggressive angiomyxomas exhibit subtle features of smooth muscle differentiation, suggesting that the neoplastic cells differentiate from a multipotent perivascular cell.

Keywords aggressive angiomyxoma, electron microscopy

Histogenesis of aggressive angiomyxoma is controversial. Immunohistochemical studies are not specific and ultrastructural studies, although accepting a myofibroblastic differentiation, have remained nonconclusive [1]. In the last decade several reports have contributed to the redefinition of the ultrastructural criteria that identify a myofibroblast and differentiate it from smooth muscle cells [2–5]. These criteria have been applied to 4 cases of aggressive angiomyxoma to identify the differentiation lineage of this neoplasm.

MATERIAL AND METHODS

Four cases of aggressive angiomyxoma were collected from the files of the Electron Microscopy Section of the Department of Pathology at Hospital 12 de Octubre of Madrid. Clinical data, site, and relevant macroscopic features were obtained from the clinical and pathologic records. Histological sections were reviewed to confirm the diagnosis.

Immunophenotypic analysis was performed on paraffin sections by using the following antibodies: cytokeratin (clone AE1-AE3, dilution 1/50), CD34 (1/50), S-100 protein (1/2,000), vimentin (1/1,000), smooth muscle actin (clone 1A4, dilution 1/50), desmin (1/100), estrogen receptors (1/20), progesterone receptors (1/50), factor VIII (1/50), calponin (1/500), h-caldesmon (1/200), and epithelial membrane antigen (EMA) (1/100). All antibodies were manufactured by Dako (Glostrup, Denmark).

Electron microscopy studies were performed on Karnovsky's reactive (case 1) or formalin (cases 2, 3, and 4) fixed tissue. The samples were postfixed in 2% osmium tetroxide, ethanol dehydrated, and included in Epon 12 resin. Thin (40- to 60-nm thick) sections were stained with lead citrate and uranyl acetate by using Reynolds' method.

RESULTS

Clinical Features

Table 1 shows the relevant clinical and gross features. All 4 cases were adult female patients between 45 and 76 years of age. Two cases were perivulvar and 2 cases were paravaginal. All 4 cases were surgically resected with no subsequent chemotherapy or radiotherapy. In case 3 the tumor recurred 19 and 33 months after the initial treatment. The other 3 cases remain free of disease at 4–75 months after the diagnosis.

Gross Examination

Complete block resection was performed in 3 cases (cases 1, 2, and 3). The tumors ranged in diameter from 1 to 8 cm and were circumscribed although non-encapsulated. The cut surface presented a gelatinous tissue without macroscopic hemorrhage or necrosis. The fourth tumor was sent to the laboratory of pathology in several fragments that showed myxoid tissue alternating with normal-appearing connective tissue.

Histopathology

In all 4 cases light microscopy (Figure 1) revealed a scarcely to moderately cellular myxoid matrix with

Received 25 November 2002; accepted 27 March 2003.

Address correspondence to Dr. Miguel A. Martínez González, Dto. De Anatomía patológica, Hospital 12 de Octubre, Crta. De Andalucía km 5,400, 28041 Madrid, Spain. E-mail: mmartinezg.hdoc@salud.madrid.org

TABLE 1 Clinicopathologic Features

Case	Age (years)	Site	Size (cm)	Follow up time (months)	Evolution
1	45	Vulva	8	62	Disease free after initial surgery
2	45	Vulva	2	52	Recurred after 19 and 33 months
3	71	Vagina	1	4	Disease free after initial surgery
4	76	Vagina	4	19	Disease free after initial surgery

abundant vessels ranging from capillaries to medium-size veins, sometimes with a hyalinized wall. The neoplastic cells were benign-appearing spindle or stellate cells. Cytoplasm was scanty and the nuclei were hyperchromatic with dense homogeneous chromatin and no visible nucleoli. Case 3 had occasional large pleomorphic cells with polylobate hyperchromatic nuclei. No case had visible mitoses. Groups of larger eosinophilic cells were seen surrounding some capillary vessels. Although grossly circumscribed, cases 1, 2, and 3 showed, on light microscopy examination, infiltrative margins (Figure 2); in case 4 the limits of the lesion could not be assessed, but in some fragments of the tissue examined,

neoplastic cells immersed in a myxoid matrix were intermixed with normal-appearing connective tissue, suggesting also an infiltrating neoplasm.

Immunohistochemistry

The results of the immunohistochemical studies are summarized in Table 2. All 4 cases were positive for vimentin, actin, and desmin and for estrogens and progesterone receptors (Figure 2). Cases 2 and 3 showed focal cytoplasmic positivity for CD34; in cases 1, 2, and 3 calponin was positive and h-caldesmon was negative (although case 3 had a very few cells that were faintly h-caldesmon positive); in case 4 calponin h-caldesmon and EMA staining could not be

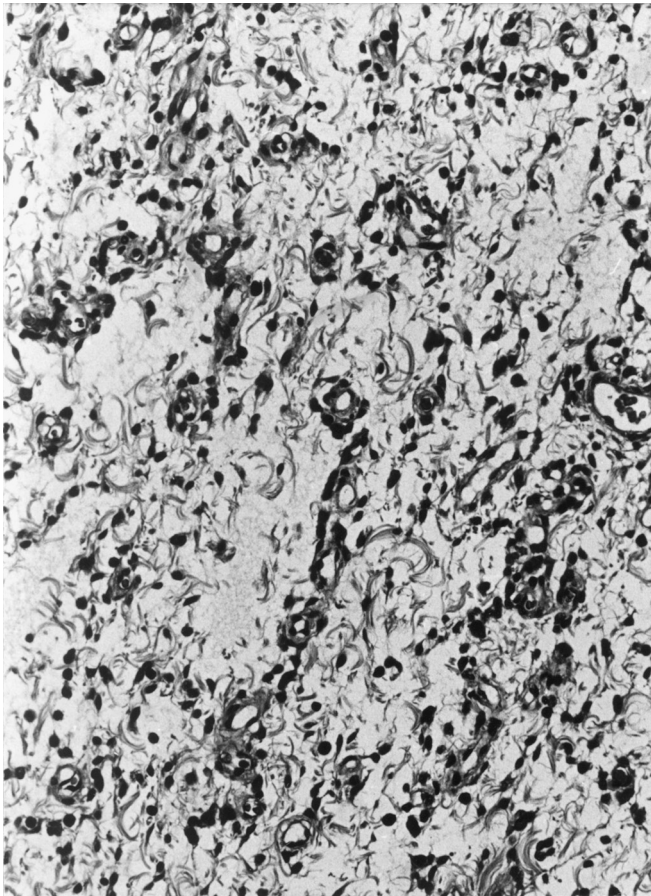


FIG. 1 Case 2. Light microscopy examination revealed stellate and spindle-shape cells immersed in a myxoid matrix and a rich frame of vessels. HE, $\times 200$.

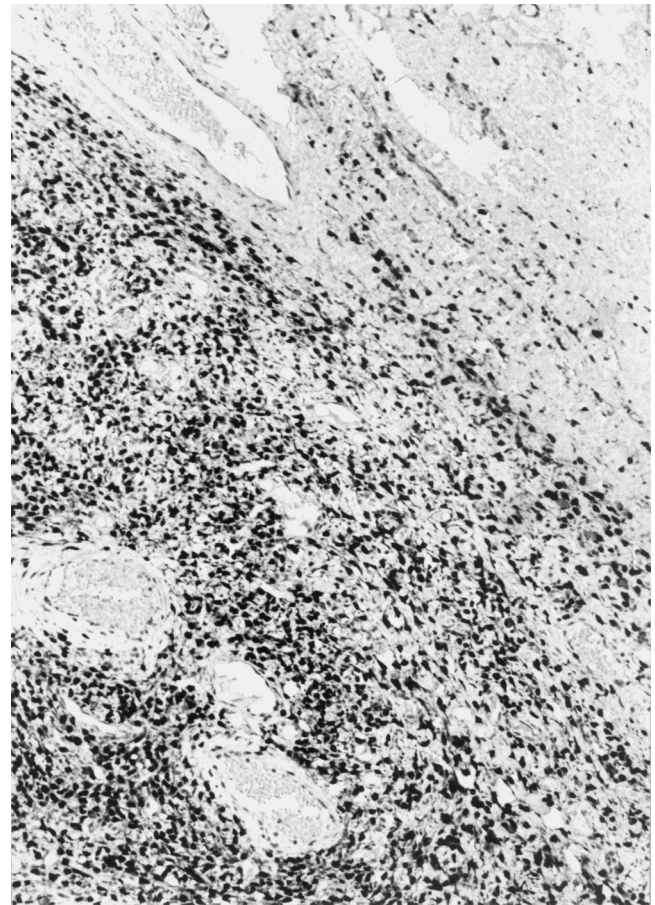


FIG. 2 Case 3. Almost 100% of the neoplastic cells were positive for progesterone receptor. Note the infiltrative margin of the lesion. Immunohistochemical staining, $\times 100$.

TABLE 2 Immunohistochemical Features

Case	AE1-AE3	CD34	S-100	Vimentin	Actin	Desmin	EsR	PrR	Calponin	Caldesmon	EMA	FVIII
1	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—
2	—	+ ^a	—	+	+ ^a	+	+	+	+	—	—	—
3	—	+ ^a	—	+	+ ^a	+	+	+	+	+/- ^b	—	—
4	— ^b	—	—	+	+	+	+	+	ND	ND	ND	—

^aOnly focal.
^bOnly slight staining on occasional cells.
Note. EsR, estrogen receptor; PrR; progesterone receptors; ND, not done.

performed due to a lack of material. Cytokeratin AE1-AE3, S-100 protein, and factor VIII were negative in all 4 cases. The EMA was negative in all 3 cases in which it could be studied.

Electron Microscopy

Ultrastructural examination revealed a similar pattern in all 4 cases. Stellate neoplastic cells with long dendritic processes were widely separated by a low-density myxoid matrix (Figure 3). All cases had a rich vascular frame. The neoplastic cells around the capillary channels had stellate or polygonal profiles and showed exclusively fragmentary basal lamina; their

cytoplasm had no distinctive features and no actin filaments, and only a few mitochondria and small cisternae of rough endoplasmic reticulum (Figure 4) were seen. As one moved away from the vessels, all 4 cases showed subtle indications of differentiation: small bunches of thin filaments and fragmentary basal lamina, caveolae, and some dense plates (Figures 5 and 6). No fibronexi were seen.

DISCUSSION

Aggressive angiomyxoma was first described by Steeper and Rosai in 1983 [6]. It is an uncommon locally infiltrating mesenchymal tumor composed of

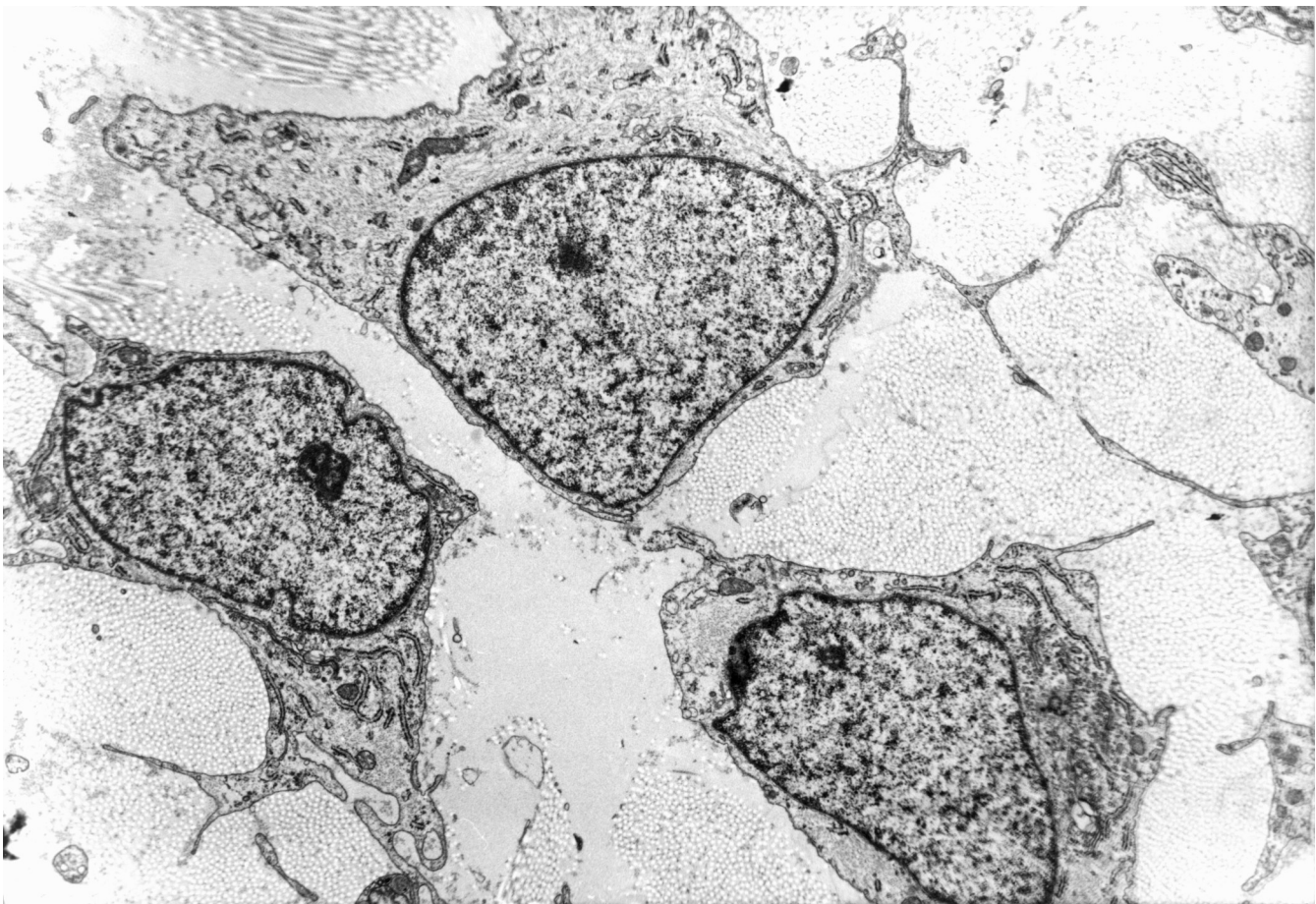


FIG. 3 Case 4. Stellate neoplastic cells immersed in a partially myxoid matrix. EM, ×8,000.

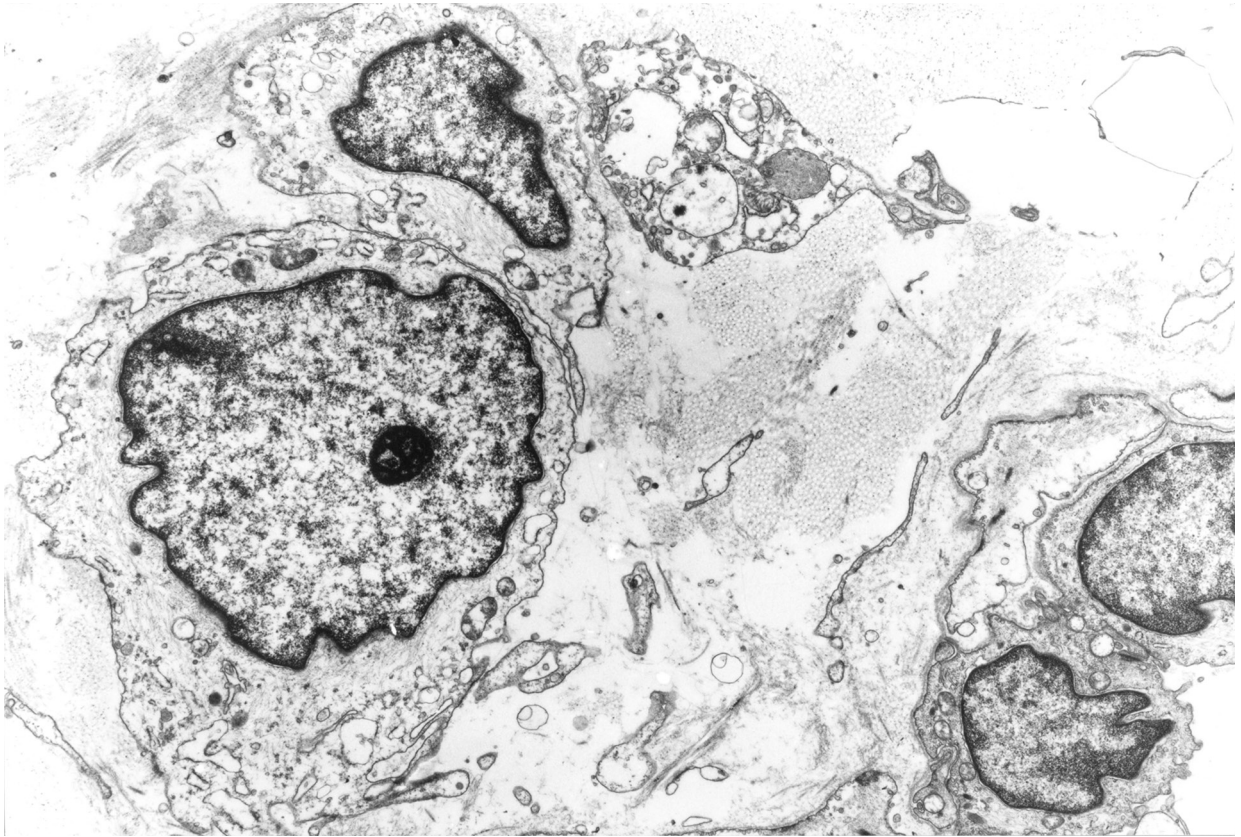


FIG. 4 Case 2. Nest of neoplastic perivascular cells with occasional attachment plates and caveolae. EM, $\times 8,000$.



FIG. 5 Case 4. Far away from the vessels, neoplastic cells show extensive basement membrane and bunches of thin filaments. EM, $\times 12,800$.

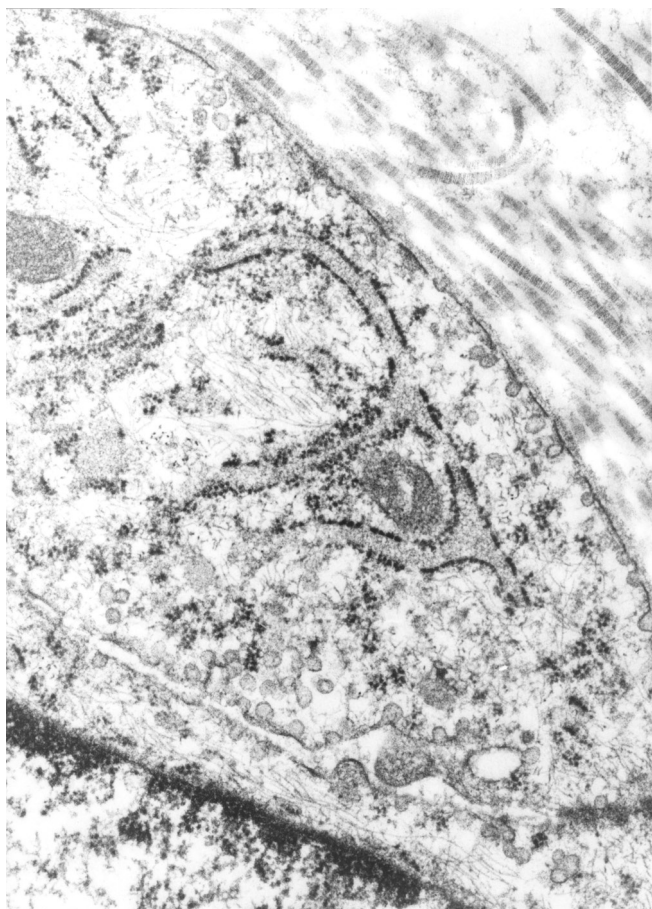


FIG. 6 *Case 1. Detail of 2 neoplastic cells with attachment plates and numerous caveolae. EM, $\times 32,000$.*

spindle or stellate cells that are widely separated by a loose myxoid stroma with a prominent vascular component [7].

Most cases occur in the vulvo-vaginal and perineal regions in women, but a few cases separate from the genitourinary area and in men have been reported [8, 9]. They are immunohistochemically characterized by being strongly vimentin positive, with a focal or diffuse reaction against smooth muscle specific actin, desmin, and progesterone and estrogen receptors [1, 10–14]. The overexpression of the chromatin-associated protein HMGIC may eventually prove to be of diagnostic value [15, 16].

The differential diagnosis includes myxoid tumors of the pelviperineal region, such as angiomyofibroblastoma and fibroepithelial stromal polyp as well as myxoid soft tissue tumors of general distribution. Three of our cases were macroscopically well delimited and give rise the possibility of angiomyofibroblastoma, but they lacked pseudocapsule, cellular density was low except on peripheral areas, and we did not find the groups of epithelioid cells that are distinctive of this tumor. Fibroepithelial stromal polyps characteristically have bizarre angulated cells, as our case 3, but this lesion has a distinctive exophytic growth pattern that

was not seen in our case. Other myxoid tumors that can create diagnostic problems include superficial angiomyxoma, which is almost always desmin negative; low-grade myxofibrosarcoma, which has a very distinctive pattern of curvilinear vessels; and perineuroma, which is EMA positive and on ultrastructural examination has characteristic bipolar cells.

There are few electron microscopic descriptions of aggressive angiomyxoma. Most authors have suggested that there is a fibroblastic or myofibroblastic differentiation [6, 8], but in most cases ultrastructure has not been considered diagnostic and only summary descriptions are provided. In the original description, Steeper and Rosai [6] examined 4 cases by electron microscopy and showed the transition from undifferentiated cells to spindle cells with filaments and caveolae, which they considered suggestive of myofibroblastic differentiation. Although favoring also myofibroblastic differentiation, Begin et al. [8] present cells with caveolae and basement membrane in their figures of 4 cases studied by electron microscopy. A few reports have suggested myoid differentiation. Skavola et al. [11] examined 2 cases by electron microscopy, one of which showed "morphology between that of the fibroblast and smooth muscle cells," while the other had well-differentiated smooth muscle cells. Festch et al. [10] report the presence of well-developed smooth muscle cells in most of their tumors, but do not give an ultrastructural analysis.

We have used electron microscopy to examine 4 tumors that fulfilled accepted histologic and immunohistochemical criteria of aggressive angiomyxoma [1, 6, 17, 18]. All 4 cases showed numerous capillary or venular vessels surrounded by isolate or trabecularly arranged spindle or polygonal-shaped cells with no distinctive features; as we moved away from the vessels, neoplastic cells became stellate and showed segmental basement membrane, attachment plaques, and caveolae. Rare cells showed intracytoplasmic bunches of microfilaments with dense bodies.

One of the most challenging difficulties in ultrastructural examination of soft tissue tumors is that with disheartening frequency many of the cells have no distinctive features and must be considered undifferentiated; differential features are often subtle and their interpretation uncertain. This is true in the cells surrounding the capillary vessels in our cases. Although we cannot exclude a pericytic origin for these cells, they lacked the distinctive features of pericytes: actin filaments, caveolae, and basement membrane [19].

On the other hand, myofibroblast has, since its definition [20], become one of the most controversial cells because it can be difficult to identify [4, 5, 21] and especially difficult to differentiate from smooth muscle cells [4, 5]. Both types of cells share some common ultrastructural features: microfilaments with dense bodies, well-developed rough endoplasmic reticulum, and notched nuclei [4, 22]. However, the

characteristics of the cell membrane, although partially overlapping, are quite distinctive: myofibroblasts are characterized by well-developed cell-stroma attachments (fibronexi) [23], intermediate cellular junctions, and fibronectin fibrils on the cell surface [4, 5]; in contrast, basement membrane, attachment plaques, and plasmalemmal caveolae are the defining features of smooth muscle cells [5]. Currently there is a panel of antibodies that helps in distinguishing between myofibroblasts and smooth muscle cells. Clone 1A4 actin, although it is characteristic of smooth muscle cells, may be positive in myofibroblast. Calponin and h-caldesmon are cytoskeletal proteins related to actin anchoring. Calponin can be detected in both myofibroblast and smooth muscle cells but h-caldesmon is specific for perivascular, visceral leiomyocytes, and myoepithelial cells [24–26].

In our cases, electron microscope examination, revealed a gradient from the undifferentiated perivascular cells to more distant elements with subtle but reliable features of smooth muscle differentiation. The immunohistochemical findings do not support myoid differentiation, but neither do they contradict it. The negativity of h-caldesmon may be due to the fact that in all 4 cases the features of myoid differentiation were only subtle and no case showed well-differentiated smooth muscle cells. On the other hand, it must be considered that not all tumors with proven smooth muscle or myoepithelial differentiation are positive for h-caldesmon [24, 25].

A gradient of differentiation has long been accepted in myxoid liposarcomas [27, 28] and, although not well identified, the existence of perivascular multipotent mesenchymal cells is generally accepted [17]. One could hypothesize that the gradual differentiation of neoplastic cells in an aggressive angiomyxoma could be secondary to the activation of the hormonal receptors of genital stroma cells [18]. Hormonal receptors are present in a number of soft tissue cells, both neoplastic and nonneoplastic [29–31] and it must be emphasized that these receptors are more strongly expressed in cells with endothelial and smooth muscle differentiation, while they are scarce or absent in myofibroblastic cells [31]. This reactivity would support our view that aggressive angiomyxoma is a mesenchymal neoplasm with, at least partial, smooth muscle differentiation.

In summary, we present the ultrastructural and immunohistochemical analysis of 4 aggressive angiomyxomas in which we found signs of smooth muscle differentiation. We suggest that this differentiation could be secondary to the effect of sex hormones on perivascular pluripotent mesenchymal cells.

REFERENCES

- Graadt van Roggen JF, Hogendoorn PCW, Fletcher CDM. Myxoid tumours of soft tissue. *Histopathology*. 1999;35:291–312.
- Eyden BP. Brief review of the fibronexus and its significance for myofibroblastic differentiation and tumor diagnosis. *Ultrastruct Pathol*. 1993;17:611–622.
- Eyden BP, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgensen E. Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord. *J Submicrosc Cytol Pathol*. 1994;26:347–355.
- Schrch W, Seemeyer TA, Gabbiani G. The myofibroblast: a quarter century after its discovery. *Am J Surg Pathol*. 1998;22:141–147.
- Eyden B. The myofibroblast: an assessment of controversial issues and a definition useful in diagnosis and research. *Ultrastruct pathol*. 2001;25:39–50.
- Steeper TA, Rosai J. Aggressive angiomyxoma of the female pelvis and perineum: report of nine cases of a distinctive type of gynecologic soft-tissue neoplasm. *Am J Surg Pathol*. 1983;7:463–475.
- Nielsen GP, Young RH. Mesenchymal tumors and tumor-like lesions of the female genital tract: a selective review with emphasis on recently described entities. *Int J Gynecol Pathol*. 2001;20:105–127.
- Begin LR, Clement PB, Kirk ME, Jothy S, McCaughey WT, Ferenczy A. Aggressive angiomyxoma of pelvic soft parts: a clinicopathologic study of nine cases. *Hum Pathol*. 1985;16:621–628.
- Tsang WY, Chan JK, Lee KC, Fisher C, Fletcher CD. Aggressive angiomyxoma: a report of four cases occurring in men. *Am J Surg Pathol*. 1992;16:1059–1065.
- Fetsch JF, Laskin WB, Lefkowitz M, Kindblom LG, Meis-Kindblom JM. Aggressive angiomyxoma: a clinicopathologic study of 29 female patients. *Cancer*. 1996;78:79–90.
- Skalova A, Michal M, Husek K, Zamecnik M, Leivo I. Aggressive angiomyxoma of the pelvioperineal region. immunohistological and ultrastructural study of seven cases. *Am J Dermatopathol*. 1993;15:446–451.
- Ockner DM, Sayadi H, Swanson PE, Ritter JH, Wick MR. Genital angiomyxofibroblastoma: comparison with aggressive angiomyxoma and other myxoid neoplasms of skin and soft tissue. *Am J Clin Pathol*. 1997;107:36–44.
- Granter SR, Nucci MR, Fletcher CD. Aggressive angiomyxoma: reappraisal of its relationship to angiomyxofibroblastoma in a series of 16 cases. *Histopathology*. 1997;30:3–10.
- Laskin WB, Fetsch JF, Tavassoli FA. Angiomyxofibroblastoma of the female genital tract: analysis of 17 cases including a lipomatous variant. *Hum Pathol*. 1997;28:1046–1055.
- Hess JL. Chromosomal translocations in benign tumors: the HMG1 proteins. *Am J Clin Pathol*. 1998;109:251–261.
- McCluggage WG. Recent advances in immunohistochemistry in gynaecological pathology. *Histopathology*. 2002;40:309–326.
- Buckley CH. Tumors of the vulva. In: Fletcher CDM, ed. *Diagnostic Histopathology of the Tumors*, ed 2. London:Churchill Livingstone; 2000:713–732.
- Weiss SH, Goldblum JR. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*, ed 4. St Louis: Mosby; 2001.
- Erlandson RA. *Diagnostic Electron Microscopy of Tumors*. New York: Raven; 1994.
- Gabbiani G, Ryan GB, Majno G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experimentia*. 1971;27:549–550.
- Taccagni G, Rovere E, Masullo M, Christensen L, Eyden B. Myofibrosarcoma of the breast. review of the literature on myofibroblastic tumors and criteria for defining myofibroblastic differentiation. *Am J Surg Pathol*. 1997;21:489–496.
- Schrch W, Seemayer TA, Gabbiani G. Myofibroblast. In: Sternberg SS, ed. *Histology for Pathologists*. New York:Raven; 1992:109–144.
- Watanabe K, Ogura G. Fibronexus in "malignant fibrous histiocytoma" of bone: a case report of pleomorphic myofibrosarcoma. *Ultrastruct Pathol*. 2002;26:47–51.
- Miettinen MM, Sarlomo-Rikala M, Kovatich AJ, Lasota J. Calponin and h-caldesmon in soft tissue tumors: consistent h-caldesmon immunoreactivity in gastrointestinal stromal tumors indicates traits of smooth muscle differentiation. *Mod Pathol*. 1999;12:756–762.
- Watanabe K, Kusakabe T, Hoshi N, Saito A, Suzuki T. H-caldesmon in leiomyosarcoma and tumors with smooth

- muscle cell-like differentiation: its specific expression in smooth muscle cell tumor. *Hum Pathol.* 1999;30:392–396.
26. Watanabe K, Tajino T, Sekiguchi M, Suzuki T. H-caldesmon as a specific marker for smooth muscle tumors: comparison with other smooth muscle markers in bone tumors. *Am J Clin Pathol.* 2000;113:663–668.
27. Napolitano L. The differentiation of white adipose cells: an electron microscopic study. *J Cell Biol.* 1963;18:663–679.
28. Dickersin GR. Spindle cell neoplasms and their epithelioid variants. In: *Diagnostic Electron Microscopy: A Text/Atlas*, ed 3. New York:Springer; 2000:247–390.
29. Di Tomaso L, Scarpellini F, Salvi F, Ragazzini T, Foschini MP. Progesterone receptor expression in orbital cavernous hemangiomas. *Virchows Arch.* 2000;436:284–288.
30. Weiss SW, Langloss JM, Shmookler BM, et al. Estrogen receptors protein in bone and soft tissue tumors. *Lab Invest.* 1986;54:689–694.
31. Chaudhuri PK, Walker MJ, Beattie CW, Das Gupta TK. Presence of steroid receptors in human soft tissue sarcomas of diverse histological origin. *Cancer Res.* 1980;40: 861–865.